

Gesundheitliche Risiken von Nanomaterialien nach inhalativer Aufnahme

Darstellung des aktuellen Kenntnisstandes

LANUV-Fachbericht 16



**Gesundheitliche Risiken von Nanomaterialien
nach inhalativer Aufnahme**

Darstellung des aktuellen Kenntnisstandes

LANUV-Fachbericht 16

Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz Nordrhein-Westfalen

Recklinghausen 2009

IMPRESSUM

Herausgeber: Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz Nordrhein-Westfalen (LANUV NRW)
Leibnizstraße 10, 45659 Recklinghausen
Telefon 02361 305-0
Telefax 02361 305-3215
E-Mail: poststelle@lanuv.nrw.de

Bearbeitung: Dirk Heller, Silvia Sievering (LANUV NRW)

Titelfoto: Fullerene © panthermedia/Simone Brandt

ISSN: 1864-3930 LANUV-Fachberichte

Informations-
dienste: Informationen und Daten aus NRW zu Natur, Umwelt und
Verbraucherschutz unter
• www.lanuv.nrw.de

Aktuelle Luftqualitätswerte zusätzlich im
• WDR-Videotext Tafeln 177 bis 179

Bereitschafts-
dienst: Nachrichtenbereitschaftszentrale des LANUV NRW
(24-Std.-Dienst): Telefon 0201 714488

Nachdruck – auch auszugsweise – ist nur unter Quellenangaben und Überlassung von
Belegexemplaren nach vorheriger Zustimmung des Herausgebers gestattet.
Die Verwendung für Werbezwecke ist grundsätzlich untersagt.

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung	4
1. Einleitung	5
2. Exposition	9
3. Toxikokinetik	13
4. Adverse gesundheitliche Effekte	21
4.1 Fullerene.....	23
4.2 Nanoröhren.....	26
4.3 Quantenpunkte.....	37
4.4 Weitere neuartige synthetische Nanopartikel.....	39
4.5 Wirkungsmechanismen.....	44
4.6 Fazit zu den vorliegenden toxikologischen Untersuchungen.....	47
4.7 Forschungs- und Handlungsbedarf.....	47
5. Risikoabschätzung und gesetzliche Regelungen	49
5.1 Risikoabschätzung.....	49
5.2 Gesetzliche Regelungen.....	51
5.2.1 Stoffrecht.....	52
5.2.2 Anlagenzulassungsrecht.....	54
5.2.3 Gefahrenabwehr und Vorsorge.....	55
5.3 Fazit: Gesetzliche Regelungen und Handlungsbedarf.....	57
6. Literatur	58
Anhang 1: Tabellen zur Toxizität von CNT	66
Anhang 2: Projekte zu gesundheitlichen Wirkungen	79

Zusammenfassung

Als Nanotechnologie bezeichnet man die Herstellung, Bearbeitung und Verwendung von Materialien auf atomarer, molekularer und makromolekularer Ebene. Die Anwendung der Nanotechnologie ermöglicht es, neue Eigenschaften und Funktionen für Komponenten und Produkte zu erzeugen. Wesentlich ist die Nutzung von neuartigen synthetischen Nanopartikeln (NSNP), d. h. gezielt hergestellten Partikeln wie Nanoröhren, Fullerenen und Quantenpunkten, die mindestens in einer Dimension kleiner als 100 Nanometer sind. Es existieren Befürchtungen, dass Nanomaterialien schädliche Wirkungen auf die menschliche Gesundheit, insbesondere nach inhalativer Aufnahme, besitzen können. Bis heute ist sehr wenig darüber bekannt, bei welchen Prozessen und an welchen Orten NSNP entstehen und/oder freigesetzt werden. Auch über das Verhalten in der Umwelt, den Eintrag in die einzelnen Umweltkompartimente wie die Luft sowie über die Exposition des Menschen liegen so gut wie keine Erkenntnisse vor.

Inwieweit die neuartigen Eigenschaften von NSNP die Toxikokinetik (Aufnahme, Verteilung, Metabolisierung und Ausscheidung) im Menschen beeinflussen und sich diese von der anderen Nanopartikel bzw. ultrafeiner Partikel unterscheidet, ist mangels Studien kaum bekannt. Die Ergebnisse der wenigen durchgeführten toxikologischen Untersuchungen sind uneinheitlich. So zeigten sich in verschiedenen Studien adverse Wirkungen (Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies, Inflammationen, zytotoxische Effekte), in anderen ließen sich keine schädlichen Reaktionen nachweisen. Auch ist zu beachten, dass in den toxikologischen Studien kein standardisiertes bzw. einheitliches Nanomaterial verwendet wurde. Daher können die Ergebnisse nur eingeschränkt miteinander verglichen werden.

Als bedeutsame Eigenschaft von NSNP hinsichtlich adverser toxikologischer Effekte kann – analog zu ultrafeinen Partikeln - vor allem die geringe Größe und die sich hieraus ergebende sehr große Oberfläche angesehen werden. Zusätzlich dürften die physikochemischen Eigenschaften wie Zusammensetzung, Konzentration, Beladung, Oberflächenchemie und andere Einflussgrößen wie der Gehalt an Verunreinigungen sowie die Umweltbedingungen die Toxizität bestimmen. Die Datenlage zur Toxikologie reicht bei weitem nicht aus, um eine fundierte Einschätzung hinsichtlich der gesundheitlichen Wirkungen nach inhalativer Aufnahme von Nanomaterialien vorzunehmen. Die neuartigen physikochemischen Eigenschaften der Nanomaterialien lassen aber – im Vergleich zu ultrafeinen Partikeln – eine anders- bzw. neuartige Toxizität erwarten. Insgesamt ist daher eine realistische Abschätzung der möglichen gesundheitlichen Risiken für den Menschen nach inhalativer Exposition gegenüber NSNP zurzeit nicht möglich.

Nach Auffassung verschiedener Autoren berücksichtigen die aktuellen Rechtsgrundlagen insbesondere im Chemikalienrecht die Risiken von neuartigen synthetischen Nanopartikeln sowie die unterschiedlichen Risiken derselben chemischen Substanz im Nanoformat und im Nicht-Nanoformat nicht. Daher müssten das Stoffrecht, das BImSchG und die TA-Luft hinsichtlich der zusätzlichen Anforderungen, die sich aus den besonderen Eigenschaften der NSNP ergeben, weiterentwickelt werden.

1. Einleitung

Die Nanotechnologie gilt als Schlüsseltechnologie des 21. Jahrhunderts mit viel versprechenden neuen Entwicklungen. Diese werden zukünftig zahlreiche Industrieprodukte, soweit dies nicht schon der Fall ist, beeinflussen. Die Einsatzmöglichkeiten der Nanotechnologie sind sehr vielfältig und erstrecken sich von der Umwelttechnik bis hin zu medizinischen Behandlungsmethoden (z. B. Krebstherapie).

Als Nanotechnologie bezeichnet man die Herstellung, Bearbeitung und Verwendung von Materialien auf atomarer, molekularer und makromolekularer Ebene. Hierdurch ist es möglich, neue Eigenschaften und Funktionen für Komponenten und Produkte zu erzeugen (Salomon 2006). Neue Eigenschaften und Funktionalitäten können sich auf Reaktivität, Transparenz, Leitfähigkeit, Festigkeit u. v. a. m. beziehen.

Wesentlich ist die Nutzung von synthetischen Nanopartikeln, d. h. gezielt hergestellten Partikeln, die mindestens in einer Dimension kleiner als 100 Nanometer sind. Im englischen Sprachraum ist der Begriff „*engineered nanoparticles*“ gebräuchlich. Man unterscheidet zwischen den sogenannten „*manufactured bulk nanoparticles in industry*“ (z. B. Carbon black, Titandioxid (TiO₂)), d. h. den bereits schon seit geraumer Zeit in großen Massen künstlich hergestellten nanoskaligen Partikeln, und den „*engineered nanoparticles in the nanotechnology industry*“ (Tran et al. 2005).

Kennzeichen des jungen boomenden Industriezweiges Nanotechnologie sind insbesondere die „*engineered nanoparticles in the nanotechnology industry*“, d. h. die neuartigen synthetischen Nanopartikel mit ihren neuen herausragenden Eigenschaften. Als Beispiele hierfür lassen sich Fullerene, Quantenpunkte und Nanoröhren aufführen (Krug 2005a).

Fullerene sind ausschließlich aus Kohlenstoffatomen bestehende Makromoleküle. Besonders gut erforscht sind Fullerene in der Form C₆₀, C₇₀, C₇₆, C₈₀ etc. C₆₀-Fullerene werden auch Buckminster Fullerene oder Buckyballs genannt. Für Fullerene werden insbesondere medizinische Anwendungen erwartet.

Kohlenstoff-Nanoröhren (Carbon Nano Tubes; CNT) sind Röhren mit einem Durchmesser von 1 bis zu 50 Nanometer. Sie sind in der Regel nur einige Mikrometer lang, vereinzelt auch länger. Kohlenstoff-Nanoröhren können ein- (Single Walled Carbon Nano Tube, SWCNT) oder mehrwandig (Multi Walled Carbon Nano Tube, MWCNT) sein. Die Enden können offen oder geschlossen sein, die Wand ein geschlossener Ring sein oder eine spiralförmige Struktur haben. CNT zeichnen sich durch eine besonders hohe Zugfestigkeit aus und sind je nach Struktur leitend oder halbleitend. Einige Strukturen haben bei tiefen Temperaturen auch die Eigenschaften eines Supraleiters. Wegen ihrer Eigenschaft als Halbleiter werden sie unter anderem für die Transistorherstellung bei Computerchips verwandt. Außerdem werden sie in der Display-Herstellung eingesetzt. Neben den Kohlenstoff-Nanoröhren gibt es noch Nanoröhren aus anderen Materialien wie Metallnitriden, -sulfiden oder -halogeniden.

Quantenpunkte, auch Quatum dots genannt, sind kugelförmige Nanokristalle mit einem Durchmesser von ca. 1-10 nm. Sie besitzen einen Kern mit einer kristallinen metalloiden Struktur bzw. Zusammensetzung und einer Hülle, die den Kern schützt. Die gewünschte Bioaktivität wird durch die Ummantelung (auch „coating“) der Kernhülle erreicht. Quantum dots stellen u. a. die Grundlage für neue Lasersysteme (Löchtfeld 2005).

Nanokomposite stellen eine Kombination von unterschiedlichen Nanopartikeln oder Nanopartikeln mit größeren, in Massen erzeugten Materialien dar. Eine Kombination aus einem Titanium-Molekül im Zentrum mit daran angehängten DNA-Strängen ist ein Beispiel für ein Nano-Biokomposit. Nanokomposite besitzen neuartige elektrische, katalytische, magneti-

sche, mechanische und/oder thermische Fähigkeiten, die sie für kommerzielle, medizinische und umweltbezogene Anwendungen hoch interessant machen (EPA 2007).

Dendrimere sind aus verzweigten Einzelteilen zusammengesetzte nanoskalige Polymere. Die Oberfläche eines Dendrimers besitzt zahlreiche Kettenenden, welche speziell zugeschnitten sein können, um bestimmte chemische Funktionen zu erzeugen. Dreidimensionale Dendrimere besitzen eine Innenhöhle, in welche andere Moleküle platziert werden können. Dies ist z. B. nützlich, um Medikamente an bestimmte Stellen innerhalb des menschlichen Körpers zu transportieren (EPA 2007).

Helland (2004) bezeichnet die Herstellung und Verwendung der o. g. "neuen Nanomaterialien" als die „wahre Nanotechnologie“. Die Oberfläche der synthetisch hergestellten Nanopartikel kann beschichtet oder unbehandelt sein. Oft sind diese Nanopartikel speziell gegen Agglomeration beschichtet, so dass sie signifikant höhere Aufenthaltszeiten in der Atmosphäre besitzen (GSF 2004, Peter 2004, Krug et al. 2005a).

Nach *Merenyi et al. (2007)* können diese neuen Nanomaterialien wie Fullerene, d. h. Stoffe, die ausschließlich im Nanoformat vorliegen, als „exklusive Nanomaterialien“ bezeichnet werden. Stoffe wie TiO₂, die neben ihrer nanoskaligen Erscheinungsform auch noch in einer nicht-nanoskaligen Erscheinungsform auftreten können, werden daher von *Merenyi et al. (2007)* als „nicht exklusive Nanomaterialien“ bezeichnet.

Neben den absichtlich hergestellten synthetischen Nanopartikeln gibt es die bei technischen Prozessen unbeabsichtigt entstehenden Nanopartikel. Dabei handelt es sich um Partikel, die kleiner 100 nm sind und i. d. R. durch Verbrennungsprozesse und anschließender sekundärer Reaktion in der Gasphase oder durch Gasphasenreaktionen entstehen. Ein Beispiel hierfür sind Dieselabgaspartikel, welche neben Partikeln im Akkumulationsmodus (100 nm bis 1-2 µm) auch Partikel im Nukleationsmodus (< 100 nm) aufweisen. Der Bereich der Wissenschaft, der sich mit der Charakterisierung und Exposition partikulärer Luftverschmutzung und deren Wirkung auf die menschliche Gesundheit befasst, verwendet für diese „unbeabsichtigt entstehenden“ Nanopartikel oftmals den Begriff „ultrafeine Partikel“ (UFP). Bei der messtechnischen Erfassung von UFP (PM_{0,1}) wird nicht unterschieden, ob die gesammelten Partikel absichtlich oder unabsichtlich entstanden sind. Die unbeabsichtigt entstandenen Partikel stellen hierbei in aller Regel den weit überwiegenden Anteil dar. Im Rahmen der Nanotechnologie werden unbeabsichtigt entstandene Nanopartikel nicht betrachtet.

Die beiden nachfolgenden Tabellen geben einen Überblick über die verschiedenen Typen von Nanopartikeln. Während in Tabelle 1 zwischen natürlichen und anthropogen hergestellten Nanopartikeln unterschieden wird, listet Tabelle 2 die unterschiedlichen Typen von neuartigen synthetischen Nanopartikeln auf.

Tabelle 1: Klassifikation von Nanopartikeln nach *Nowack und Bucheli (2007)*

		Bildung		Beispiele
Natürlich	C-haltig	Biogen	Organische Kolloide	Huminsäuren, Fulvinsäuren,
			Organismen	Viren
		Geogen	Ruß	Fullerene
		Atmosphärisch	Aerosole	Organische Säuren
		Pyrogen	Ruß	CNT, Fullerene, Nanokügelchen, zwiebelförmige Nanosphären
	Anorganisch	Biogen	Oxide Metalle	Magnetit Ag, Au
	Geogen	Oxide Tone	Fe-Oxide Allophane	
	Atmosphärisch	Aerosole	Seesalz	
Anthropogen (hergestellt, gefertigt, konstruiert)	C-haltig	Nebenprodukt	Verbrennungsprodukte	CNT, Nanokügelchen, zwiebelförmige Nanosphären
		hergestellt, konstruiert	Ruß	Carbon Black, Fullerene, Funktionalisierte CNT, Fullerene
			Polymer-Nanopartikel	Polyethylenglykol (PEG)-NP
	Anorganisch	Nebenprodukt hergestellt, konstruiert	Verbrennungsprodukt	Platingruppenelemente
			Oxide	TiO ₂ , SiO ₂
			Metalle	Ag, Eisen
			Salze	Metallphosphate
	Aluminiumsilikate	Zeolithe, Tone, Keramiken		

Tabelle 2: Kategorien und Subkategorien von Nanomaterialien nach *Englert (2007)*

Ursprungsmaterial	Kategorie	Subkategorien
kohlenstoffbasiert	Kohlenstoffnanoröhren (CNT)	SWCNT MWCNT
	Fullerene (z. B. C ₆₀)	
	Auf Dendrimerstruktur basierende Nanomaterialien	Nanoskalige Dendrimer- Hybride Dendrimere
anorganisch oxidische Nanopartikel	TiO ₂ ZnO SiO ₂	
Quantenpunkte	ZnS, CdS	
Verschiedene Nanopartikel	Ag Au Hybrid-Materialien: Kernhülle, multiplex oder organisch-anorganisch	

Auf der einen Seite führt die Nanotechnologie u. a. zu verbesserten Produkten wie kratzfeste Autolacke, funktionale Textilien oder aktive Innenraumfarben. Auf der anderen Seite existieren Befürchtungen, dass mögliche adverse Wirkungen für die menschliche Gesundheit und die Umwelt (z. B. Wasser, Boden, Luft) bestehen, insbesondere, da sich feine und ultrafeine Partikel bereits als ein nicht zu unterschätzendes Risiko herausgestellt haben (*Salomon 2006*). Hier ist die zentrale Frage zu beantworten, wie der Mensch und seine Umwelt mit synthetischen Nanopartikeln in Berührung kommt.

Zu den möglichen gesundheitlichen Wirkungen durch neuartige synthetische Nanopartikel liegt mittlerweile auch eine Reihe von Übersichtsarbeiten vor (*Borm (2002), Aitken et al. (2004), Dreher (2004), Hoet et al. (2004), Donaldson et al. (2004), Helland (2004), HMG (2005), Karluss und Sayre (2005), Maynard und Kuempel (2005), Oberdörster et al. (2005a), Oberdörster et al. (2005b), Krug (2005a), Löchtfeld et al. (2005), Wang et al. (2005), BfR (2006), CDC/NIOSH (2006), Donaldson et al. (2006), Hardman (2006), Lam et al. (2006), Nel et al. (2006), UBA (2006), EPA (2007), Meili et al. (2007), Krug und Fleischer (2007), Helland et al. (2007), Kahan et al. (2007), Moshhammer und Wallner (2007), Nowack und Bucheli (2007)*). Diese müssen sich aufgrund der spärlichen Datenlage zurzeit hauptsächlich damit begnügen, offene Fragen zu benennen. In Ermangelung an konkreten Daten zu neuartigen synthetischen Nanopartikeln wird oftmals nur der Kenntnisstand zu nanoskaligen bzw. ultrafeinen Partikeln aufgerollt und in Beziehung zu neuartigen synthetischen Nanopartikeln gesetzt.

Der vorliegende Bericht gibt Auskunft über den Kenntnisstand zu den möglichen gesundheitlichen Wirkungen von „neuartigen“ synthetischen Nanopartikeln bei inhalativer Exposition. Grundlage des Berichtes sind Originalarbeiten und verschiedene Übersichtsarbeiten. Es werden ausschließlich synthetische Nanopartikel (NSNP) mit ihren neuartigen Eigenschaften („*engineered nanoparticles in the nanotechnology*“) angesprochen.

Näher betrachtet werden die Themen: Exposition, Absorption/Distribution/Metabolismus/Exkretion (ADME) bzw. Toxikokinetik, Toxikologie (in vivo- und in vitro-Untersuchungen), Gesundheitseffekte–Zielorgane und Wirkmechanismen, Dosis-Wirkungsbeziehungen und Risikoabschätzung. Anschließend wird der jeweilige Forschungsbedarf bzw. Handlungsbedarf aufgezeigt und ein Überblick über Forschungsprojekte gegeben.

Die Themen Definition, Anwendungsgebiete und Messung von neuartigen synthetischen Nanopartikeln werden bei der Berichterstattung durch das LANUV NRW nicht berücksichtigt. Auch auf die Freisetzung von neuartigen synthetischen Nanopartikeln in die Umwelt bzw. in die einzelnen Umweltkompartimente wie insbesondere Luft sowie auf den Verbleib in der Luft, d. h. das atmosphärische Schicksal, wird nicht explizit eingegangen.

2. Exposition

Über die Exposition des Menschen gegenüber neuartigen synthetischen Nanopartikeln ist derzeit wenig bekannt (*Oberdörster et al. 2005a*).

Nach der amerikanischen Umweltschutzbehörde (EPA) kommt der Exposition am Arbeitsplatz besondere Bedeutung zu, da Arbeiter höheren Konzentrationen und Expositionsspitzen ausgesetzt seien und häufiger mit Nanomaterial in Kontakt kommen können (*EPA 2007*). Das Risiko einer Exposition während der Produktion schein jedoch gering zu sein, da die meisten Prozesse in abgeschlossenen Systemen mit ausreichenden Filtereinrichtungen ablaufen (*EPA 2007*).

Von der Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin (BAuA) und dem Verband der Chemischen Industrie (VCI) wurde hinsichtlich der Tätigkeiten mit Nanomaterialien an Arbeitsplätzen eine gemeinsame Fragebogenaktion initiiert. Ziel war es, die Schwerpunktfelder in der Nanotechnologie aufzuzeigen und eventuell den entsprechenden Handlungsbedarf zur Empfehlung von Schutzmaßnahmen abzuleiten (*Plitzko und Gierke 2007*).

Mit einer Rücklaufquote von 33 % gibt der Fragebogen einen ersten Überblick über Tätigkeiten mit Nanomaterialien in Deutschland. Von 217 beteiligten Betrieben führen nur 21 % Tätigkeiten mit Nanomaterialien durch. Im Ergebnis zeigte sich, dass die meisten Unternehmen (51 %) einen Umgang mit Nanomaterialien im Umfang < 100 kg/Jahr haben. Nur in 7 % der Betriebe liegt der Umfang bei > 1000 t/Jahr. Regelmäßige oder hauptsächlich orientierende Expositionsmessungen wurden in 31 % der Betriebe durchgeführt. Der überwiegende Teil der Betriebe, die keine Messungen durchführten, hatten Umgang mit Nanomaterialien in einem Umfang < 100 kg/Jahr.

Bei den Messungen wurden die Parameter E-Staub- (einatembarer Staub), A-Staub- (alveolengängiger Staub) und Partikelanzahlkonzentration bestimmt. Eine detaillierte Bestimmung der chemischen Zusammensetzung der Nanomaterialien wurde nach Kenntnisstand nicht vorgenommen. Die Primärpartikelgrößen von 85 % der Nanomaterialien sind bekannt, das Maximum D_{50} liegt bei 20 bis < 50 nm. Aber bei Tätigkeiten im Umgang mit ca. 80 % der Produkte sind die Partikelgrößenverteilungen und die Teilchenanzahlkonzentrationen am Arbeitsplatz nicht bekannt. Dies ist mit der aufwändigen, kostenintensiven und noch nicht verifizierten Messtechnik zu begründen.

Eine allgemeine Einschätzung der Expositionshöhe an Arbeitsplätzen bei Tätigkeiten mit Nanomaterialien kann auf der Grundlage der Ergebnisse des Fragebogens noch nicht getroffen werden.

Maynard et al. (2004) konnten bei ersten Messungen am Arbeitsplatz nur geringe Konzentrationen ermitteln. Als Ergebnis von Laborstudien zur Evaluierung der physikalischen Eigenschaften von aus SWCNT geformten Aerosolen zeigte sich, dass bei ausreichend heftiger mechanischer Bewegung von Single Walled Carbon Nanotubes (SWCNT) Partikel in die Umgebungsluft freigesetzt werden können. Bei einer Feldstudie ließen sich allerdings nur sehr geringe Konzentrationen feststellen, welche während des Umgangs mit SWCNT entstehen. Eine Abschätzung der Konzentration des Nanoröhren-Materials in der Luft ergab einen Wert von weniger als $53 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (*Maynard et al. 2004*). Selbst bei solch geringen Massenkonzentrationen kann es, wie das Beispiel ultrafeine Partikel zeigt, zu einer hohen Partikelanzahlkonzentration kommen. So beträgt die Partikelanzahlkonzentration für Partikel mit einem Durchmesser von 20 nm und einer Massenkonzentration von $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 1×10^6 Partikel/ cm^3 (*Oberdörster et al. 2005a*).

Neben der Exposition am Arbeitsplatz sowie bei therapeutischen und diagnostischen Behandlungen ist auch eine relevante Exposition des Menschen gegenüber erhöhten Umwelt-

konzentrationen von NSNP wie Quantenpunkten denkbar. Dies betrifft insbesondere auch die umweltbedingte inhalative Exposition des Menschen, welche im hier vorliegenden Bericht im Mittelpunkt des Interesses steht.

Evelyn et al. (2003) konnten feststellen, dass sich in Dieselabgasen Nanoröhren befinden. Da der Mensch insbesondere in Ballungsgebieten in hohen Maßen Dieselabgasen ausgesetzt ist, wäre auch eine Umweltextposition des Menschen gegenüber Nanoröhren möglich. MWCNT und andere kohlenstoffhaltige Nanopartikel wurden in Staubproben aus El Paso und Houston gefunden (*Murr et al. 2004a*). Nach *Murr et al. (2004b)* handelt es sich bei etwa 15% des Inhaltes der Proben um Kohlenstoffverbände, die MWCNT und andere Nanoformen enthalten. *Bang et al. (2004)* fanden in Staubansammlungen aus Innenräumen MWCNT und andere Nanopartikel aus Kohlenstoff. Sie vermuten, dass diese bei der Verbrennung von Propan- und Erdgas-betriebenen Küchenöfen entstehen und schlussfolgern, dass MWCNT und Kohlenstoffnanopartikel in der Umwelt ubiquitär vorkommen. Weiter vermuten sie, dass MWCNT eine bedeutende Komponente im Staub darstellen. MWCNT und Fulleren-ähnliche Nanokristalle wurden in einer 10000 Jahre alten Eisprobe aus Grönland gefunden (*Esquivel und Murr 2004, Murr et al. 2004b*). Aufgrund der vorhergehenden Ergebnisse nehmen *Lam et al. (2006)* an, dass bereits alle Menschen einer CNT-Exposition unterliegen.

Nach *Helland et al. (2007)* stehen die bei natürlichen Prozessen und anthropogenen Verbrennungsprozessen entstehenden MWCNT im Verdacht, im Feinstaub hauptursächlich die Pathogenese von kardiopulmonalen Krankheiten zu induzieren. Es gibt jedoch physikalische Unterschiede zwischen verbrennungsgenerierten und engineered MWCNT (*Lam et al. 2006* zitiert bei *Helland 2007*). Zur Untersuchung der Eigenschaften von engineered CNT spielt daher die Struktur der bei natürlichen und anthropogenen Prozessen entstandenen MWCNT eine weniger wichtige Rolle, da die gezielte Veränderung des Eigenschaftsprofils die engineered CNT einmalig und unvergleichbar macht.

Somit ist fraglich und kritisch zu hinterfragen, ob die o. g. Nanostrukturen und deren Gehalte als Produkte anthropogener sowie natürlicher Verbrennungsprozesse tatsächlich mit den NSNP als Produkte der Nanotechnologie gleichgesetzt werden und hieraus Aussagen zur Belastung durch NSNP getroffen werden können.

Insgesamt fehlen bezüglich der NSNP hinreichende Informationen für eine konkrete umweltbedingte Exposition des Menschen. Aussagen zur potenziellen Exposition können zwar durch Übertragung aus Erkenntnissen zu Materialien ähnlicher Größe und physikochemischer Eigenschaften vorgenommen werden. Inwieweit sich jedoch durch die neuartigen Eigenschaften der synthetischen Nanopartikel deren Expositionsmuster von denen ultrafeiner Partikel und faserförmiger Stäube unterscheidet, muss erst noch beantwortet werden.

Synthetische Nanopartikel wie SWCNT und Fullerene tendieren dazu, nach ihrer Freisetzung, aus z. B. der Gasphase, zu agglomerieren. Da es aus diesem Grund schwierig ist, aus diesen Nanomaterialien einzelne einatembare Nanoröhren und Nanopartikel zu generieren und definierte Expositionsbedingungen zu schaffen, ist auch die Durchführung von toxikologischen Experimenten mit inhalativer Exposition schwierig zu bewerkstelligen (*Maynard et al. 2004*).

Die Exposition der Allgemeinbevölkerung könnte zum einen über die Freisetzung von Nanopartikeln aus der Produktion (nicht funktionierende Filter, Reinigung von Anlagen, Verluste bei Sprühtrocknung etc.), zum anderen aus dem Gebrauch von Nanopartikeln bzw. von Materialien, die Nanopartikeln enthalten, erfolgen (*EPA 2007*). Die meisten Nanomaterialien oder -produkte sind derzeit allerdings nur im Laborgebrauch, so dass eine Umweltbelastung des Menschen aktuell niedrig oder vernachlässigbar sein dürfte (*Aitken et al. 2004, Luther et al. 2004*).

Einige Produkte aus neuartigen synthetischen Nanopartikeln sind jetzt schon auf dem Markt, wobei die Nanomaterialien meist in festgebundener Form vorliegen und somit ohne derzeit erkennbare relevante Bedeutung sind. Das „Woodrow Wilson International Center for Scholars“ hat eine Liste mit Verbrauchsgütern veröffentlicht, in denen Nanopartikel enthalten sind (<http://www.nanotechproject.org/44/consumernanotechnology>). Ob und in welchem Maße eine Freisetzung der NSNP aus diesen oder anderen Produkten während ihres gesamten Lebenszyklus erfolgt, ist noch unklar. Es ist u. U. zu erwarten, dass eine solche Freisetzung erfolgen kann und NSNP in die Umwelt eingetragen werden. Auch muss zukünftig mit einer Steigerung der Produktion und einer Vielzahl von neuen Produkten gerechnet werden. Von diesen ist zu erwarten, dass sie sich als Gegenstände des täglichen Gebrauchs etablieren werden. Auf längere Sicht ist daher für NSNP mit einer vermehrten Freisetzung und einem erhöhten Eintrag in die einzelnen Umweltkompartimente wie insbesondere der Luft zu rechnen (*Oberdörster et al. 2005a, Krug 2005a, Krug 2007*).

Bei einer erhöhten Freisetzung dürfte insbesondere die Oberflächenbehandlung technisch hergestellter Nanopartikel eine Rolle spielen (*Krug 2005a*). Hinsichtlich des Verbleibes in der Umwelt ist bedeutsam, dass die Halbwertszeit der neuartigen synthetischen Nanopartikel bspw. gegenüber feinen Partikeln vergleichsweise lang ist (*Hardman 2006*). Es ist allerdings zu erwarten, dass neuartige synthetische Nanopartikel sehr schnell aggregieren, wobei aber wiederum ungeklärt ist, ob und unter welchen Bedingungen es zur Deaggregation kommen kann (*Salomon 2006*).

Nach *Helland et al. (2007)* könnten NSNP wie z.B. Carbon Nano Tubes ihr Verhalten nach einer möglichen Freisetzung ändern, da die physikalischen und chemischen Prozesse in den Umweltkompartimenten die Eigenschaften der NSNP beeinflussen könnten. So beobachteten *Kamat et al. 1998* (zitiert bei *Helland 2007*) für Fullerene und *Derfus et al. 2004* (zitiert bei *Helland 2007*) für Quantum dots, dass abiotischen Faktoren wie ultraviolettes Licht die Ummantelung der untersuchten Nanopartikel verändern konnten.

Darüberhinaus könnten CNT nach der Freisetzung aufgrund der relativ großen Oberfläche andere Moleküle und Verunreinigungen an sich binden und durch die Atmosphäre transportieren (*Kleiner und Hogan 2003* zitiert bei *Helland 2007*). In verschiedenen Studien stellten sich Nanomaterialien als hervorragende Sorbentien für z.B. organische Verunreinigungen, Metalle und Fluoride heraus (*Fiorito et al. 2006, Jia et al. 2005, Yang et al. 2006* zitiert bei *Helland 2007*).

Die aufgrund des Herstellungsprozesses in den Nanopartikeln enthaltenen Verunreinigungen könnten bei der Exposition eine Rolle spielen. So enthalten beispielsweise CNT Metallkatalysatoren wie Nickel, welches mit einem erhöhten Krebsrisiko in der Nasenregion in Verbindung gebracht werden könnte (*Feron et al. 2002* zitiert bei *Helland et al. 2007*).

Plata et al. (2007) stellten mit einer neuen Analysenmethode fest, dass bei der Produktion von CNT Nebenprodukte gebildet werden, die zum Teil als Luftschadstoffe anzusehen sind. So ermittelten sie u. a. fünfzehn verschiedene aromatische Kohlenwasserstoffe inklusive 4 PAK, wie sie auch im Zigarettenrauch und in Autoabgasen gefunden werden. Unter den ermittelten Nebenprodukten befanden sich insbesondere auch krebserzeugende Substanzen wie das als krebserzeugend eingestufte Benzo(a)pyren. Nach Meinung der Autoren würden, wenn ggf. zukünftig CNT im Tonnenmaßstab produziert werden, auch Nebenprodukte wie PAK im Tonnenmaßstab anfallen und u. U. emittiert werden. Dem könne dadurch begegnet werden, indem beim Produktionsprozess entsprechende emissionsmindernde Maßnahmen wie Filter zur Anwendung kommen oder neue Produktionsmethoden für CNT entwickelt werden, aus denen weniger toxikologisch bedeutsame Stoffe entweichen.

Insgesamt können aus bereits o. g. Gründen in Zukunft höhere Umweltkonzentrationen an NSNP angenommen werden. Deshalb dürfte mit gewisser Wahrscheinlichkeit eine inhalative Exposition des Menschen gegenüber NSNP zu erwarten sein (*Oberdörster et al. 2005a, Krug 2005a*). Auch könnten die zukünftig zu erwartenden höheren Partikelkonzentrationen an NSNP in der Umwelt zu einer Erhöhung der Konzentration an UFP führen. In welchem Ausmaß dies der Fall wäre, ist aber nicht abzusehen. Nach *Krug (2005a)* werden einige der aus Nanomaterialien bestehenden Produkte über kurz oder lang zu einer Erhöhung der Anzahl der ultrafeinen Partikel in der Umwelt führen.

Über diese theoretischen Überlegungen hinaus fehlen für neuartige synthetische Nanopartikel weitestgehend konkrete Erkenntnisse in Form von Messdaten. So ist bis heute nicht bzw. nur sehr wenig darüber bekannt, bei welchen Prozessen und an welchen Orten neuartige synthetische Nanopartikel entstehen oder freigesetzt werden. Es gibt erste Abschätzungen und Vermutungen dazu, aber noch kein fundiertes Wissen. Das liegt zur Hauptsache daran, dass viele dieser Quellen erst noch entstehen werden oder in der Entstehungsphase sind.

Aber nicht nur bezüglich der Freisetzung bestehen erhebliche Wissenslücken. Auch über das Verhalten in der Umwelt (atmosphärisches „Schicksal“), den Eintrag in die einzelnen Umweltkompartimente wie die Luft und vor allem über die Exposition des Menschen ist so gut wie nichts bekannt. Insbesondere mangelt es an genauen Erkenntnissen darüber, wo und in welcher Form relevante Expositionen auftreten können. Es fehlen konkrete Erkenntnisse über die relevanten Expositionszeiten und Expositionshöhe bezogen auf den inhalativen Aufnahmepfad. Zudem ist unklar, an welchen Stellen des Lebensweges von neuartigen synthetischen Nanopartikeln eine Exposition des Menschen erfolgen kann.

Es stellt sich daher die Frage, ob eine inhalative Exposition des Menschen gegenüber bestimmten einzelnen Typen von neuartigen synthetischen Nanopartikeln wie z. B. C₆₀-Fullerenen vorliegt bzw. es zukünftig zu einer solchen kommen kann.

Als Erkenntnis aus der vorliegenden Literatur lässt sich bezüglich der Exposition des Menschen gegenüber NSNP der folgende Forschungs- und Handlungsbedarf angeben:

- Freisetzung und Eintrag in die Umwelt (Lebenszyklus: Produktion-Verarbeitung-Produkt-Verwertung)
Mengen/Konzentrationen/Oberflächengrößen bei welchen Vorgängen
- Verhalten in der Umwelt bzw. im Umweltkompartiment Luft (Absinken, Agglomeration, Ablagerung, Abbau, Löslichkeit - "atmosphärisches Schicksal")
- Fähigkeit von NSNP, als Transportmittel für andere toxische Substanzen zu dienen
- Verbreitung von NSNP durch andere Schadstoffe
- relevante Level, Zeiten und Orte der menschlichen Exposition bei inhalativer Aufnahme
- Entwicklung und Optimierung von geeigneten Technologien zur Ermittlung der umweltbedingten inhalativen Exposition des Menschen
Messung welcher Metrik (Anzahlkonzentration, Oberfläche, Massenkonzentration)
Einrichtung einer Datensammlung für eindeutig charakterisierte, standardisierte synthetische Nanopartikel
- Entwicklung von Mechanismen zur Expositionskontrolle

3. Toxikokinetik

Zurzeit liegen zur Toxikokinetik bzw. zur Absorption/Distribution/Metabolismus/Exkretion (ADME) von neuartigen synthetischen Nanopartikeln (NSNP) nur sehr wenige Studien vor. So existieren mit Stand 2005 nach Auffassung von *Tran et al.* (2005) keine validen toxikokinetischen Daten z. B. für Nanoröhren. Erkenntnisse zur ADME von NSNP existieren aus verschiedenen pharmakokinetischen Studien. Die hier unter anderer Zielsetzung (gewollte Kinetik) als bei toxikokinetischen Studien gewonnen Erkenntnisse können bei der Interpretation toxikokinetischer Mechanismen hilfreich sein. Daher werden im Folgenden vereinzelt auch Ergebnisse aus pharmakokinetischen Untersuchungen aufgeführt. Ein Anspruch auf Vollständigkeit wird hierbei aber nicht erhoben.

Absorption (Aufnahme)

Nach den vorliegenden Erkenntnissen aus Wirkungsuntersuchungen stellt für nanoskalige bzw. ultrafeine Partikel die inhalative Aufnahme den bedeutendsten Aufnahmepfad dar. Zum einen kann die Lunge selbst das Zielorgan sein und über eine Kausalkette (Bildung von oxidativem Stress, Inflammationen) können lokal adverse Effekte ausgelöst werden. Zum anderen ist die Lunge das Eintrittsportal in die systemische Blutzirkulation, wodurch im Weiteren systemische Effekte wie kardiovaskuläre Erkrankungen verursacht werden können (*Hoet et al.* 2006).

In Analogie hierzu ist auch für neuartige synthetische Nanopartikel (NSNP) davon auszugehen, dass der inhalative Aufnahmepfad den Hauptaufnahmepfad darstellt (*Oberdörster et al.* 2005a). Inwieweit aber die neuartigen Eigenschaften von NSNP konkret die Aufnahme beeinflussen und sich diese von der Aufnahme anderer Nanopartikel bzw. ultrafeiner Partikel unterscheidet, ist nicht bekannt und sollte Gegenstand weiterer Untersuchungen sein.

Neben der inhalativen Aufnahme dürften aber auch die orale und dermale sowie die intravenöse, subkutane und intramuskuläre Aufnahme von Belang sein (*Oberdörster et al.* 2005a).

Die Deposition, Clearance und Retention von NSNP im Bronchialbaum und im Alveolarbereich wurde nach Kenntnisstand nicht explizit untersucht. Da NSNP lediglich nanoskalige Partikel bestimmter Art und Herkunft darstellen, dürften für erstere bezüglich der Deposition, Clearance und Retention zunächst ebenfalls die Mechanismen angenommen werden können, welche allgemein für nanoskalige Partikel gelten. Zu klären bleibt in diesem Zusammenhang, ob die neuartigen physikochemischen Eigenschaften der NSNP zu veränderten und/oder neuen Mechanismen führen.

Die Deposition, Clearance und Retention von nanoskaligen bzw. ultrafeinen Partikeln lässt sich wie folgt beschreiben:

Partikel im Größenbereich von 20 bis 100 nm deponieren aufgrund ihrer Diffusionseigenschaften nur zu einem relativ geringen Anteil im Bronchialbaum. Die meisten werden auf den alveolaren Wänden abgedeposiert. Für Partikel kleiner 20 nm gilt dies nicht. Mit abnehmendem Durchmesser steigt deren Diffusionsgeschwindigkeit und führt zu nennenswerten Depositionsanteilen in den Atemwegen. Partikel, die auf die Mukusschicht (Schleimschicht) fallen, werden zusammen mit dieser durch die ziliare Aktivität des Bronchialepithels in Richtung Kehlkopf transportiert und abgeschluckt. Freiwandernde Alveolarmakrophagen auf dem Alveolarepithel erkennen größere Partikel als Fremdkörper und phagozytieren sie, wobei 1 bis 2 µm große Partikel optimal eliminiert werden. In vitro Versuche haben gezeigt, dass die Phagozytoserate insbesondere für kleinere Partikel erheblich langsamer vonstatten geht. Wandern die Alveolarmakrophagen dann zu den Bronchien, werden die Partikel mit den gesamten Makrophagen über den Mukozillartransport zum Kehlkopf befördert und abgeschluckt. Daraus ergibt sich grundsätzlich auch eine Aufnahme über den Gastrointestinaltrakt (*Peter* 2004).

Auf diese Weise werden beim Menschen innerhalb eines Jahres ein Drittel der eingeatmeten, unlöslichen Partikel aus dem Alveolarbereich eliminiert. Der Rest der Partikel, also 2/3, verbleibt auf dem Alveolarepithel und wird u. a. im Bindegewebe retiniert, so dass die Verweildauer von Partikeln im alveolaren Bereich Jahre andauern kann. Nanoskalige Partikel werden bei vergleichbarer Massenkonzentration aufgrund ihrer höheren Anzahl und ihrer Diffusionseigenschaften gleichmäßiger auf dem Alveolarepithel deponiert als größere Partikel, und offenbar zu einem erheblichen Teil von Epithelzellen aufgenommen, da die Phagozytose durch Alveolarmakrophagen bei den nanoskaligen Partikeln eine geringere Rolle als bei größeren Partikeln spielt, wie bereits zuvor erwähnt. Die durch Epithelzellen aufgenommenen Partikel können grundsätzlich im Epithel verbleiben und dort mit den Epithelzellen interagieren, was schließlich zu starken Entzündungsreaktionen im Lungengewebe führen kann. Darüber hinaus können die Partikel weiter in das Bindegewebe transportiert werden (GSF 2004).

Distribution und Translokation

Zur Distribution und Translokation von inhalativ aufgenommenen neuartigen synthetischen Nanopartikeln (NSNP) im menschlichen Körper liegen nur sehr wenige Erkenntnisse vor.

Für Partikel im nanoskaligen Bereich ist bekannt, dass diese in, zwischen und durch Gewebeschichten der Lunge transportiert werden können (HMG 2005).

In der Studie von *Muller et al. (2005)* wurde die Menge der in der Lunge (Ratte) verbliebenen Nanoröhren 28 Stunden und 60 Stunden nach Instillation gemessen. Die Stichproben enthielten 0,7 µm und 5,9 µm lange Nanotubes (Durchmesser 5 nm). Da Makrophagen Objekte einer Länge von 5,9 µm noch problemlos phagozytieren können (*Donaldson und Tran, 2004*), muss hierbei wohl die Eigenschaft der längeren Nanotubes, vermehrt Bündel und Geflechte zu bilden (*Maynard et al. 2004*) als die kürzeren, eine Rolle gespielt haben.

Über die Biopersistenz von Nanotubes ist zurzeit wenig bekannt. Es gibt auch noch keine (in vitro) Studien über die Beständigkeit von Nanospheres oder Nanotubes in körperähnlichen Flüssigkeiten. Die Löslichkeit von Nanopartikeln ist allerdings generell grösser als die von Bulk-Material. Es ist auch noch nicht bekannt, ob Nanotubes, ähnlich wie Asbestfasern, zu den Pleuren oder in den Peritonealraum gelangen und dort krebserregende Auswirkungen haben können (*Meili et al. 2007*).

Studien, in denen radioaktive Nanopartikel verwendet wurden, haben gezeigt, dass Nanopartikel von der Lunge in das Blut gelangen (*HMG 2005*). Demnach ist eine systemische Translokation der Nanopartikel durch die Luft-Blutbarriere der Lunge, d. h. der Übertritt in die Blutzirkulation, möglich (*GSF 2004, Salomon 2006*).

Nanopartikel, die durch die Bronchiolarwände und Alveolen in den Blutkreislauf gelangen, werden mit dem Blut im Körper weiterverteilt. Makrophagen der retikuloendothelialen Systeme in Organen wie der Leber, Milz und Knochenmark dienen dazu Antigene und andere Substanzen aus dem Blut zu entfernen. Diese Organe empfangen wahrscheinlich eine beträchtliche Dosis der blutgetragenen Nanopartikel. Studien mit Iridium-Nanopartikeln haben gezeigt, dass inhalierte Nanopartikel bei geringer Massenkonzentration aber hoher Partikelanzahlkonzentration von der Rattenlunge in die Leber, Nieren, Milz, Herz und Gehirn translozieren und bei einmaliger Exposition dort für sechs Monate einbehalten werden. Studien mit Nanopartikeln, die zwecks Medikamentenverabreichung durchgeführt wurden, unterstreichen, dass bestimmte Oberflächenkonfigurationen, z. B. Coatings mit Polyethylen-glykol, die Aufnahme(rate) für jedwede im Blut vorhandene Partikel in das Gewebe vermindern. Somit wird potentiell die Zirkulation der Nanopartikel verlängert (*Bazile et al. 1995, Niidome et al. 2006, Peracchia et al. 1999 in SCENIHR 2007*).

Für die Anzahl und die Geschwindigkeit, mit der Nanopartikel von der Lunge in die Blutzirkulation und damit in die Organe, wie z. B. die Leber, übertreten, gibt es unterschiedliche Befunde (*Helland 2004, Oberdörster et al. 2004, Semmler et al. 2004*). So konnte beispielsweise beobachtet werden, dass mehr als 50% von in Ratten eingebrachten ^{13}C -Nanopartikel (26 nm) innerhalb von 24 Stunden in die Leber verlagert wurden. Nach Gabe von 20 nm großen Silberpartikeln wurden dagegen nur Anteile um 5 % in der Leber von Ratten nachgewiesen (dabei wurde allerdings der gelöste Anteil nicht vom partikelförmigen getrennt).

Nach *Semmler et al. (2004)* erhöht eine Langzeittranslokation von ultrafeinen ^{192}Ir -Partikeln aus der Lunge aber nicht stetig die Partikel-Gehalte in sekundären Zielorganen (Leber, Milz, Herz, Gehirn). Dies ergab sich nach Experimenten bei inhalativer Exposition von männlichen adulten Ratten. Unter Berücksichtigung der Eliminationsraten aus diesen Organen akkumuliert nur ein sehr geringer Anteil der ursprünglich in der Lunge deponierten Partikeln in den Zielorganen. Nach diesen Untersuchungen schließen die Autoren, dass sich die Eliminationsmechanismen für ultrafeine ^{192}Ir -Partikel nicht von denen mikroskaliger Partikel unterscheiden.

Takenaka et al. (2001) untersuchten die pulmonale und systemische Verteilung von ultrafeinen elementaren Silberpartikeln (EAg). Hierzu wurden Ratten über 6 Stunden gegenüber einer Konzentration von $133 \mu\text{g EAg}/\text{m}^3$ ($3 \times 10^6 \text{ cm}^3$, 15 nm modaler Durchmesser) inhalativ exponiert. Zum Vergleich wurden den Versuchstieren intratracheal wässrige Lösungen mit Silbernitrat-Partikel und agglomerierten ultrafeinen EAg-Partikel verabreicht. Nach Inhalation von ultrafeinem elementarem Silber und Instillation von AgNO_3 wird Ag rasch aus der Lunge eliminiert und systemisch im Körper verteilt. Vergleichsweise hohe Ag-Konzentrationen fanden sich in den Nasenhöhlen und in den Lymphknoten des Lungengewebes. In Leber, Nieren, Milz, Gehirn und Herz ließen sich dagegen nur geringe Konzentrationen wiederfinden.

Der oben beschriebene Übertritt von synthetischen Nanopartikeln in die Blutzirkulation und die Translokation in verschiedene Organe lässt sich zum einen gezielt zu therapeutischen Zwecken einsetzen, indem an NSNP angelagerte Medikamente z.B. ins Gehirn transportiert werden. Denkbar ist aber auch, dass synthetische Nanopartikel unerwünscht z. B. ins Gehirn gelangen. Damit Nanopartikel/UFP ins Blut übertreten können, müssen sie durch das Lungenepithel und das Gefäßendothel transportiert werden. Welche Mechanismen dabei eine Rolle spielen, ist Gegenstand laufender Untersuchungen (*GSF 2004*). Dieser Vorgang wird als mögliche Ursache dafür angesehen, dass UFP aus der Umwelt gesundheitsschädigende Effekte auf Herz und Kreislauf, das zentrale Nervensystem und das Immunsystem induzieren können.

In einigen Untersuchungen an Ratten konnte entsprechend festgestellt werden, dass bestimmte Nanopartikel, aber nicht explizit neuartige synthetische Nanopartikel, nach Inhalation über das zentrale Nervensystem bis in das Gehirn gelangen können. Der genaue Mechanismus hierbei ist bislang unklar. Damit können Partikel in das Gehirn gelangen, ohne die äußerst selektive Blut-Hirn-Schranke zu passieren (*Oberdörster et al. 2004, Oberdörster et al. 2005a, HMG 2005*). *Elder et al. (2006)* konnten für ultrafeine Manganoxid-Partikel (\varnothing 30 nm) einen Transport über den Geruchsnerve in das ZNS nach inhalativer Exposition bei Ratten feststellen. Nach Auffassung der Autoren ist dieser Aufnahmepfad, trotz der Unterschiede in den olfaktorischen Systemen von Mensch und Nagetier, für den Menschen als relevant anzusehen.

Insgesamt lässt sich festhalten, dass nichtlösliche Nanopartikel in die Lunge und in das Gehirn gelangen und dort über Jahre verbleiben können. Sie werden vergleichsweise schlecht von den Makrophagen aufgenommen, interagieren aber mit Zellen des Lungenepithels, dem Lungenzwischengewebe und vaskulären Zellen. Darüber hinaus können Nanopartikel an Proteine binden, in die Blutzirkulation übertreten und somit sekundäre Zielorgane wie Leber, Milz, Nieren, Herz und Gehirn erreichen. Mit welchen Raten und Anteilen dies geschieht, ist

bislang unklar und dürfte teilweise von den chemischen und Oberflächeneigenschaften der Nanopartikel abhängen (*Borm et al. 2006*).

Ob diese o. g. Erkenntnisse auch für neuartige synthetische Nanopartikel (NSNP) wie Nanoröhren und Quantenpunkte mit ihren andersartigen physikochemischen Eigenschaften gelten bzw. vollständig auf diese übertragen werden können, bleibt zu klären.

Nach *Hardman (2006)* konnte für Quantenpunkte in einigen Studien eine systemische Verteilung und die Akkumulation in Organen und Geweben gezeigt werden. Die Charakteristiken der Absorption, Distribution, Metabolisierung und Exkretion sind aber aufgrund der großen Unterschiede in den physikochemischen Eigenschaften von Quantenpunkten hoch variabel. Die Größe, Konzentration, Beladung, chemische Zusammensetzung des Kerns und des Beschichtungsmaterials sowie dessen Bioaktivität und oxidative, photolytische und mechanische Stabilität dürften nach *Hardman (2006)* hierbei eine Rolle spielen. Obwohl in manchen Studien die zelluläre Stoffaufnahme und intrazelluläre vesikuläre Transport- und Lagerungsprozesse als mögliche Mechanismen genannt werden, bleiben die exakten Mechanismen der ADME bislang unklar. So kann die Größe allein die Distributionskinetik merklich beeinflussen und die Oberflächenbeschichtung das Depositionsmuster bestimmen (*Hardman 2006*).

In wenigen Studien mit Nagetieren konnte allerdings nach intravenöser Injektion eine Translokation von neuartigen synthetischen Nanopartikeln über den Blutstrom in verschiedene Organe festgestellt werden. Tabelle 3 zeigt entsprechende Untersuchungsergebnisse.

Nach *Tsuchiya et al. (1996)* ließ sich nach intraperitonealer Applizierung an trächtigen Mäusen nachweisen, dass C₆₀-Fullerene in den Embryo gelangen können.

Foley et al. (2002) untersuchten die zelluläre Distribution von C₆₁-Fullerenen. Demnach kann dieses wasserlösliche Fullerenderivat die externe zelluläre Membran durchqueren und findet sich vorzugsweise in den Mitochondrien wieder. Das Ergebnis ihrer pharmakologischen Studie unterstützt nach Auffassung der Autoren den potenziellen Gebrauch von Fullerenen als Arzneimittel-Trägerstoff.

Singh et al. (2006) dagegen konnten in einer pharmakokinetischen Studie zeigen, dass sich mit DTPA funktionalisierte wasserlösliche SWCNT nach intravenöser Verabreichung nicht in Leber oder Milz der Versuchstiere anreichern und rasch aus der systemischen Blutzirkulation über die Nieren ausgeschieden werden. Darüber hinaus ließ sich nachweisen, dass funktionalisierte SWCNT und MWCNT als intakte Nanoröhren mit dem Urin ausgeschieden werden.

Nigavekar et al. (2004) untersuchten in einer pharmakokinetischen Studie in vivo (Maus) die Biodistribution von unterschiedlich geladenen Polyamidoamin(PANAM)-Dendrimeren nach intravenöser Verabreichung. Demnach werden Dendrimere mit positiv (PSD) und neutral (NSD) geladenen Oberflächen in verschiedene Organe transloziert. Es wurde gezeigt, dass die Biodistribution abhängig von der Beladung ist. Die Translokation von PSD ins Gewebe war höher als bei NSD. Die höchsten Gehalte wurden in der Lunge, der Leber und den Nieren gefunden, gefolgt von Herz, Milz und Bauchspeicheldrüse. Die geringsten Gehalte fanden sich im Gehirn. Aus dem Blut werden die Dendrimere rasch eliminiert. Die maximale Ausscheidung über den Urin wird innerhalb von 24 Stunden nach Applikation erreicht.

Wang et al. (2004) bestimmten die Konzentration von ¹²⁵I-markierten vielfach hydroxylierten SWCNT (wasserlöslich und weitgehend kompatibel mit der Körperflüssigkeit) in den verschiedenen Kompartimenten und im Gewebe von Mäusen (in vivo) zeitabhängig nach intraperitonealer Injektion. Die SWCNTs verteilten sich in messbarer Konzentration schnell über den ganzen Körper mit Ausnahme des Gehirns, akkumulierten leicht und verblieben für längere Zeit in den Knochen. Innerhalb von 11 Tagen wurde die gesamte Menge der SWCNT

wieder ausgeschieden (94% über den Urin und 6% über die Faeces). Die Ergebnisse zeigten, dass sich die SWCNT frei bewegen konnten und sich somit wie kleine Moleküle verhielten. Um den Einfluss der Verabreichungsform von SWCNT auf die Verteilung im Gewebe zu untersuchen, wurde ihre Konzentration im Körper nach drei weiteren Verabreichungsmethoden untersucht: subkutane Injektion, Magen-Intubation und intravenöse Injektion. Es ergaben sich keine wesentlichen Einflüsse der Verabreichungsform auf die Verteilung im Körper.

Tabelle 3: Translokation von NSNP über den Blutstrom in verschiedene Organe nach intravenöser Injektion

Typ	Größe	Ergebnis	Quelle
Quantenpunkte aus Polyethylenglykol	ca. 10 nm	rasches Erscheinen von Quantenpunkte in Leber, Milz, Lymphknoten, Knochenmark (Mäuse)	<i>Ballou et al. 2004</i>
Metallo-Fullerene	< 220 nm	Höchste Akkumulation in Knochenmark gefolgt von Leber, kontinuierlicher Anstieg im Knochenmark, aber Verringerung in Leber (Mäuse)	<i>Cagle et al. 1999</i>
Mit Human-Serum-Albumin beschichtete Polymilchsäure-Nanopartikel	90 – 250 nm	Signifikante Akkumulation im Knochenmark, gefolgt von Leber (Ratte)	<i>Bazile et al. 1992</i>
Quantenpunkte (QD 705) mit CdTe-Kern und ZnS-Schale, oberflächenmodifiziert mit einem inerten biologisch kompatiblen Polymer (PEG 100)	ca. 13 nm	Blutplasma-Halbwertszeit von 18,5h, innerhalb des Untersuchungszeitraums (28 Tage) stieg die Konzentration der QD stetig an: in Milz (5,2% der QD nach 28 Tagen), in Leber 42% der QD nach 28 Tagen, in Niere 9,2% der QD nach 28 Tagen) (Mäuse)	<i>Yang et al. 2007</i>
Gold-Nanopartikel stabilisiert mit negativ geladenen ionischen Liganden in wässriger Lösung und radioaktiv markiert mit ¹⁹⁸ Au	1,4 nm und 18 nm	Nanopartikel beider Größen akkumulierten in allen Organen in unterschiedlicher aber nachweisbarer Höhe. Die Größe der Nanopartikel beeinflusst die Translokationskinetik des vaskulären Endotheliums eindeutig: Gold-Nanopartikel mit einer Größe von 1,4 nm führten verglichen mit den gleichen Nanopartikeln einer Größe von 18 nm, zu einer verlängerten Zirkulation im Blutkreislauf und einer höheren Akkumulation in den sekundären Zielorganen. Die in der Untersuchung verwendeten Nanopartikel konnten alle untersuchten Membranen passieren, wie insbesondere die Blut-Hirn-Schranke, die Magen-Darm-Wand sowie die Plazenta von trächtigen Ratten. Somit konnten die Nanopartikel auch den Fötus erreichen.	<i>Semmler-Behnke et al. 2007</i>

Metabolisierung und Exkretion

Die Verstoffwechslung und Ausscheidung von neuartigen synthetischen Nanopartikeln im bzw. aus dem menschlichen Körper wurde bislang wenig untersucht. Es ist daher unklar, wie das metabolische Schicksal unterschiedlicher Nanopartikel genau aussieht. Einige Nanopartikel, wie Nanoröhren, können entweder direkt ausgeschieden werden oder Umwandlungsprozessen unterliegen. Zudem ist davon auszugehen, dass durch Phagozytose und der daraus resultierenden Produktion von reaktiven Sauerstoffspezies derivatisierte Nanopartikel gebildet werden können. Lipophile Nanopartikel besitzen das Potenzial im Fettgewebe zu akkumulieren. Zurzeit gibt es für Nanopartikel keine veröffentlichten Forschungsergebnisse über die Abhängigkeit des Metabolismus und der biologischen Abbaupfade von der Partikelgröße (SCENIHR 2007).

Für Fullerene konnte gezeigt werden, dass diese in einem aquatischen System metabolisiert werden. Nach Auffassung von *Borm et al. (2006)* kann daher angenommen werden, dass aus Kohlenstoff bestehende Nanopartikel, speziell solche mit verzweigten Seitenketten oder hydrophilen Gruppen, auch im menschlichen Körper den normalen Metabolisierungsmechanismen, welche durch oxidative Enzyme gesteuert werden, unterliegen.

Gewöhnlicherweise werden im Körper aufgenommene und verteilte Xenobiotika (körperfremde Stoffe) anhand von enzymatischen Mechanismen, bei denen der Stoff chemisch verändert werden kann, metabolisiert. Eine chemische Abänderung ist weniger bei anorganischen Nanopartikeln zu erwarten, eher können an der Partikeloberfläche anhängende Molekülgruppen enzymatisch modifiziert werden.

Wie die genauen Stoffwechselmechanismen für die verschiedenen NSNP aussehen, und welche Unterschiede es hierbei aufgrund der neuartigen chemisch-physikalischen Eigenschaften gegenüber ultrafeinen Partikeln gibt bzw. geben kann, ist derzeit nicht zu beantworten.

Die Eliminationsmechanismen nanoskaliger bzw. ultrafeiner Partikel aus der Lunge wurden bereits oben beschrieben. Für neuartige synthetische Nanopartikel dürften prinzipiell dieselben Mechanismen eine Rolle spielen. Ob aufgrund der neuartigen physikochemischen Eigenschaften für diese auch eine veränderte Clearance zu erwarten ist, ist ungewiss.

Aus dem Blut können Nanopartikel auf verschiedene Art und Weise eliminiert werden. Diese können zum einen als freie einzelne oder aggregierte Partikel oder zum anderen zusammen mit Proteinen des Blutserums ausgeschieden werden. Freie einzelne oder aggregierte Partikel werden wahrscheinlich über den Blutstrom via Phagozyten in das Retikuloendothelium (Gesamtheit der Retikulumzellen des lymphatischen Systems) entfernt und somit in Organen wie der Leber akkumuliert. Insgesamt ist nicht zu erwarten, dass Nanopartikel als einzelne Partikel im Körper verbleiben, da sie aller Wahrscheinlichkeit nach sehr schnell an biologische Moleküle wie Proteine gebunden werden.

Einen natürlichen Ausscheidungspfad für körperfremde Substanzen stellt auch die Exkretion über die Nieren in den Urin dar. In Anbetracht ihrer Größe oder Oberflächenfunktionalität ist es möglich, dass auch Nanopartikel der glomerulären Filtration unterliegen können und über den Urin ausgeschieden werden (*Singh et al. 2006*). Daher wurde dies auch für synthetische Nanopartikel untersucht. Für nanoskalige Polyamidoamin(PAMAM)-Dendrimere (\varnothing 5 nm) konnte in einem Mausmodell eine solche Exkretion mit dem Urin sowie eine Akkumulation in den Nieren beobachtet werden. Einige pharmakologische Studien legen nahe, dass Medikamente zielgerichtet in die Nieren geleitet werden können, indem sie in Nanopartikel inkorporiert werden.

Singh hat gezeigt, dass derivatisierte Nanoröhren wasserlöslich werden und rasch und effizient in den Urin abgeschieden werden (*Singh et al. 2006*).

Eine Exkretion von Xenobiotika aus dem Körper kann prinzipiell auch über die Galle erfolgen. Persistente Nanopartikel können in die Galle abgesondert werden oder in den Nieren gefiltert werden und in den Urin gelangen.

Nach oraler Verabreichung von radioaktiven Polymethylmethacrylat-Nanopartikeln an Ratten konnte entsprechend auch eine erhöhte Radioaktivität in deren Galle und Urin festgestellt werden (*Borm et al. 2006*). ¹²⁵I-markierte vielfach hydroxylierte SWCNT - über verschiedene Verabreichungsformen zugeführt (*Wang et al. 2004*, nähere Versuchsbeschreibung siehe oben) wurden innerhalb von 11 Tagen von den Mäusen gesamt wieder ausgeschieden (94% über den Urin und 6% über die Faeces). Dagegen verblieben die von *Yang et al. (2007)* untersuchten Quantum dots (QD 705, siehe Tabelle 3) in dem Untersuchungszeitraum von 28 Tagen nahezu vollständig im Körper der Mäuse.

Nach oraler Gabe von wasserlöslichen, mit C¹⁴-markierten, Fullenderivaten an Ratten zeigte sich, dass diese nur im geringen Ausmaß absorbiert werden. Die verabreichte, radioaktiv markierte Substanz, gemessen als Radioaktivität, wurde nahezu vollständig über den Stuhl ausgeschieden. Die intravenöse Injektion derselben Fullerene resultierte in einer raschen Verteilung hin zur Leber und anderen Geweben mit einer nachfolgenden, vergleichsweise langsamen Elimination (nach einer Woche wurde noch 90 % Radioaktivität festgestellt, *Yamago et al. 1995*).

Eine vergleichbare Kinetik wurde von *Rajagopalan et al. (1996)* beobachtet. Nach ebenfalls intravenöser Verabreichung von wasserlöslichen, derivatisierten Fullerenen an Ratten mit einer Dosis von 15 mg/kg stellten diese fest, dass 99 % der verabreichten Dosis an das Plasmaprotein gebunden wurden, und auch nach 24 Stunden so gut wie keine Clearance über die Niere erfolgte.

Insgesamt ist festzuhalten, dass die genauen Exkretionsmechanismen von neuartigen synthetischen Nanopartikeln derzeit nicht bekannt sind.

Einen Überblick über die Toxikokinetik, d. h. die Aufnahme, Distribution, Metabolisierung und Exkretion, von Nanopartikeln (nicht explizit neuartige synthetische Nanopartikel) gibt die nachfolgende Abbildung.

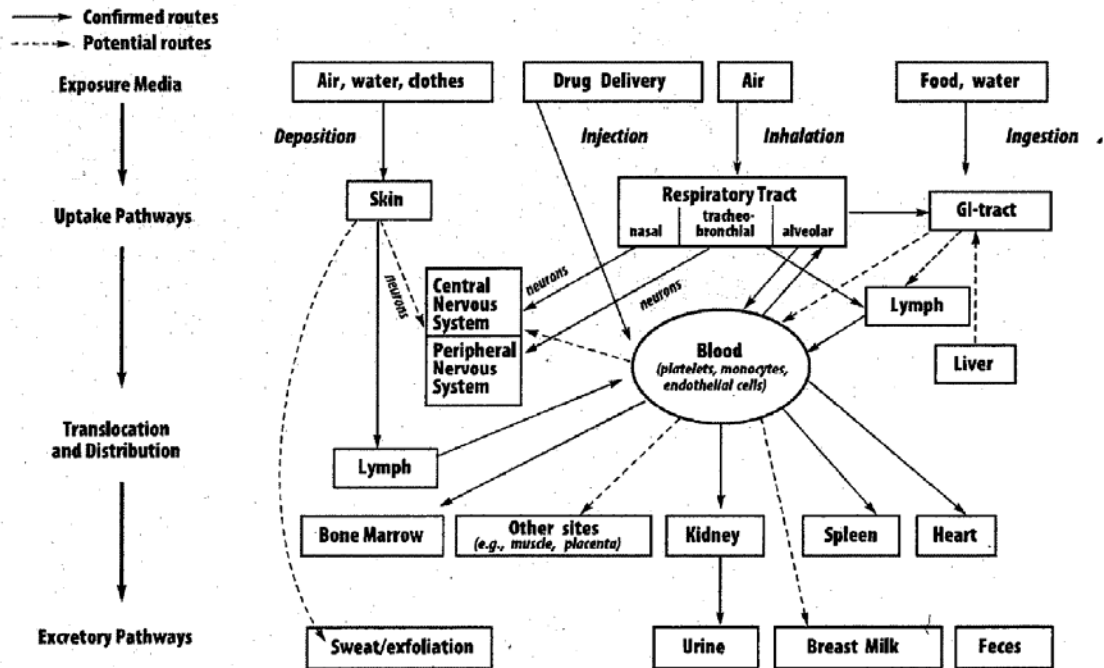


Abbildung 1: Toxikokinetik von Nanopartikeln (Oberdörster 2005)

Forschungs- und Handlungsbedarf

Hinsichtlich der Absorption, Distribution, Metabolisierung und Exkretion (ADME) lässt sich folgender konkreter Forschungs- und Handlungsbedarf angeben (verändert nach Tran et al. 2005):

- Ausmaß der inhalativen Aufnahme
- Toxikokinetische Prozesse nach Deposition im Respirationstrakt nach inhalativer Aufnahme
- Geschwindigkeit und Ausmaß der Verteilung unterschiedlicher NSNP in Geweben
- Verteilung innerhalb verschiedener Zelltypen und Zellstrukturen, z. B. Mitochondrien
- Entwicklung eines Struktur/Aktivitäts-Paradigma für die Translokation unterschiedlicher NSNP
- Prozesse des Metabolismus und der Exkretion
- Pleuraler und peritonealer Transport
- Neuronaler Transport

4. Adverse gesundheitliche Effekte

Während in einer Vielzahl von Studien die Möglichkeiten zu fortschrittlichen Anwendungen von neuartigen synthetischen Nanopartikeln untersucht wurden, hat die öffentliche Diskussion zu den möglichen Gefahren erst vor relativ kurzer Zeit begonnen. Dementsprechend liegen auch erst wenige Untersuchungen vor, in welchen den möglichen adversen Effekten von NSNP nachgegangen wurde. So führt die amerikanische Umweltschutzbehörde EPA als Ergebnis ihrer Recherche (Stand 2005) mit Hilfe der Datenbank PubMed unter Verwendung der Suchbegriffe „Fullerene“, „Carbon nanotubes“, „Quantum dots“, „Dendrimer“ und „Toxicity“ insgesamt nur ca. 30 Studien auf, in welchen toxikologische Effekte der o. g. Nanomaterialien untersucht wurden (EPA 2007). Der Begriff Nanomaterialien schloss hier keine nanoskaligen Parameter wie Carbon Black und TiO₂ ein.

Allerdings existiert aus der Wirkungsforschung zu nanoskaligen bzw. ultrafeinen Partikeln (UFP) eine Reihe von Erkenntnissen, die auch für neuartige synthetische Nanopartikel von Belang sind. Daher wird nachfolgend zunächst ein Überblick über den Erkenntnisstand zu den gesundheitlichen Effekten und den zugrunde liegenden Wirkmechanismen von UFP bzw. nanoskaligen Partikeln gegeben. Hierzu liegt mittlerweile eine Vielzahl von Übersichtsarbeiten (u. a. *Borm et al. 2006*) vor. Der Erkenntnisstand lässt sich wie folgt zusammenfassen:

Für ultrafeine Partikel (UFP) konnte anhand von wenigen epidemiologischen Studien eine Assoziation mit pulmonalen und kardiovaskulären Erkrankungen eindeutig nachgewiesen werden. Da ähnliche Korrelationen allerdings auch mit Feinpartikeln (PM_{2,5}) gefunden wurden, können die Gesundheitseffekte der Umweltpartikel nicht eindeutig den ultrafeinen Partikeln zugeordnet werden.

Anhand von Tierversuchen konnte die pulmonale Toxizität durch ultrafeine Partikel bzw. nanoskalige Partikel festgestellt werden. Hier wurden u. a. nanoskalige Partikel wie Dieselabgaspartikel, Carbon Black und TiO₂ verabreicht.

Nach Inhalation oder intratrachealer Instillation von ultrafeinen Partikeln ließ sich insbesondere eine bronchiale Entzündung mit neutrophilen Granulozyten nachweisen. Die Entzündung ist umso stärker, je höher die Anzahl der verabreichten Partikel bei gleicher Gesamtpartikelmasse ist. Das bedeutet, dass bei gleicher Partikelmasse ultrafeine Partikel aufgrund ihrer hohen Anzahl und damit ihrer großen Gesamtoberfläche einen stärkeren Effekt ausüben als feine Partikel.

Weiter konnte für ultrafeine Partikel gezeigt werden, dass die Entzündung durch oxidativen Stress, also durch die Generierung von reaktiven Sauerstoffspezies in Zellen und Geweben hervorgerufen wird. Je größer die Partikeloberfläche, desto ausgeprägter der oxidative Stress und desto stärker ist die hervorgerufene Entzündungsreaktion. Zusätzlich zur Oberfläche ist die Zusammensetzung der Partikel von Bedeutung. Partikel, die Übergangsmetalle oder organische Bestandteile (PAK) enthalten, üben einen stärkeren oxidativen Stress aus. Durch oxidativen Stress kommt es über die Aktivierung von Transkriptionsfaktoren zur Freisetzung von Entzündungsmediatoren und Zytokinen aus Epithelzellen und Makrophagen. Dadurch werden Entzündungszellen wie z. B. neutrophile Granulozyten angezogen, die wiederum sekundäre Sauerstoffspezies generieren und somit den oxidativen Stress verstärken.

In den sehr wenigen kontrollierten Inhalationsversuchen mit ultrafeinen Partikeln beim gesunden und vorgeschädigten (Asthma) Menschen konnten Veränderungen der Lungenfunktion und Zeichen einer Atemwegsentzündung bzw. eine Steigerung der bronchialen Überempfindlichkeit festgestellt werden. Damit zeigte sich, dass selbst bei einer Kurzzeitexposition

on gegenüber hohen Konzentrationen messbare Gesundheitseffekte bei Gesunden auftreten können. Es ist anzunehmen, dass diese Effekte bei Patienten mit chronischen Vorerkrankungen und älteren Patienten deutlich stärker ausgeprägt sind. In kontrollierten Inhalationsstudien beim Tier und beim Menschen konnte gezeigt werden, dass ultrafeine Partikel sehr rasch in die Blutbahn gelangen und sich im gesamten Organismus verteilen. In Tierversuchen konnte nach Inhalation oder Instillation von ultrafeinen Partikeln in Abhängigkeit von ihrer Anzahl und der Oberflächenbeschaffenheit eine Reihe von Effekten auf das Herz-Kreislaufsystem gezeigt werden. Ultrafeine Partikel können somit über verschiedene Pathomechanismen zur kardiovaskulären Morbidität und Mortalität beitragen.

Nach Inhalation von radioaktiv markierten ultrafeinen Partikeln konnten diese sogar im Gehirn von Versuchstieren nachgewiesen werden. Denkbar ist eine Translokation der Partikel aus den Atemwegen in das Gehirn nicht nur über den Riechnerv, sondern auch über den Nervus Trigemini und den Nervus vagus. Welche Bedeutung diese Translokation für die Gesundheit hat, ist bislang noch nicht geklärt (*Krug 2006a*).

Da für neuartige synthetische Nanopartikel neben den ggf. neuen bzw. veränderten Wirkmechanismen, zunächst einmal auch die gleichen Wirkmechanismen und Zielorgane wie für UFP vermutet werden können, finden Untersuchungen zu NSNP oftmals mit der gleichen Zielsetzung wie Studien zu UFP statt. Es wird somit insbesondere versucht, die Generierung von reaktiven Sauerstoffspezies sowie die hierdurch verursachten Entzündungsreaktionen nachzuweisen.

Konkret werden Studien zur Lokalisierung von neuartigen synthetischen Nanopartikeln in Zellen sowie zu deren zytotoxischen Effekten durchgeführt, da insbesondere Erkenntnisse über den Transport von Nanopartikeln durch Membrane zwischen und innerhalb von Zellen (z. B. in Mitochondrien) sowie Erkenntnisse zu toxischen Effekten und wie sie hervorgerufen werden (oxidativer Stress, Genotoxizität, inflammatorische Zytokinproduktion und Apoptose) fehlen. Speziell in vitro-Studien (Zelllinien und Zellen aus Primärkulturen) können zur Klärung beitragen, ob und welche pathogenen Effekte auftreten, welche Wirkmechanismen für diese Effekte verantwortlich sind und wie insbesondere zelluläre Abwehrmechanismen reagieren. Bei toxikologischen Untersuchungen (in vivo- und in vitro-Studien) können bzw. werden entweder vereinzelt Nanopartikel (singlet nano particle, sNP), Aggregate von Nanopartikeln (aNP) und Agglomerate von sNP und aNP eingesetzt.

Nanoskalige, vereinzelt Partikel können im Prinzip in alle Zellen vordringen. Krankmachende Effekte entstehen potenziell bei höherer Konzentration oder durch besondere, möglicherweise sehr kleine Teilchen durch die Schädigung und/oder durch krankhafte Stimulierung der Zellen, die nachfolgend zu lokalen und systemischen Belastungen führen. Zur Beschreibung einer toxikologischen Wirkung ist es daher unabdingbar, die verabreichten Nanopartikel detailliert zu beschreiben (*Bruch 2007*).

Nachfolgend sind die Ergebnisse für Fullerene, Nanoröhren, Quantenpunkte und andere neuartige synthetische Nanopartikel aus den noch vergleichsweise wenigen in vivo- und in vitro-Untersuchungen aufgeführt. In vivo-Untersuchungen mit inhalativer Exposition der Versuchstiere liegen kaum vor. Daher werden im Folgenden auch Erkenntnisse aus Studien mit andersartiger Verabreichungsform wie beispielsweise intratrachealer und intraperitonealer Applikation sowie intrapharyngealer Aspiration aufgeführt. Kontrollierte klinische Inhalationsversuche am Menschen zu NSNP wurden nach Kenntnisstand nicht durchgeführt.

Aus verschiedenen pharmakologischen Studien liegen ebenfalls Erkenntnisse zur Toxizität von NSNP vor. Die hier unter anderer Zielsetzung (absichtlich herbeigeführte Effekte) gewonnenen Erkenntnisse können bei der Interpretation toxikologischer Wirkungen und deren Mechanismen hilfreich sein. Daher werden im Folgenden, sofern es sinnvoll erscheint, vereinzelt auch Ergebnisse aus pharmakologischen Untersuchungen aufgeführt.

4.1 Fullerene

Zur Toxizität von Fullerenen liegen nur wenige Untersuchungen vor. Dies betrifft insbesondere auch die Toxizität von Fullerenen nach inhalativer Aufnahme beim Menschen. Die wenigen vorliegenden Ergebnisse ergeben insgesamt kein einheitliches Bild. Nach *Wiesner (2006)* bleibt die Frage einer möglichen Toxizität von Fulleren-Nanomaterialien zum gegenwärtigen Zeitpunkt weitgehend unbeantwortet. Aus verschiedenen Studien ist aber bekannt, dass Fullerene wie Buckyballs toxische Wirkungen verursachen können. Andere Studien berichten laut *Wiesner (2006)* über den gewollten therapeutischen Effekt, dass einige Arten von Buckyballs für Krebszellen toxisch sein können.

Nachfolgend werden Ergebnisse aus den wenigen vorliegenden in vivo- und in vitro-Studien vorgestellt.

In vivo-Studien

Von *Tsuchiya et al. (1996)* konnte für C₆₀-Fullerene gezeigt werden, dass nach intraperitonealer Verabreichung von 50 mg/kg an trächtigen Mäusen diese in den Dottersack und in den Embryo gelangen und dort schädliche Effekte auslösen können.

Ueng et al. (1997) untersuchten die akute Toxizität von Fullerenol-1, indem sie Mäusen intraperitoneal gegenüber polyhydroxylierten C₆₀-Derivaten applizierten. Das wasserlösliche Fullerenol-1 kann nach diesen Untersuchungen biochemische Funktionen des endoplasmatischen Retikulums und der Mitochondrien verändern. Eine geeignete Derivatisierung und Anpassung der chemischen Reaktivität der funktionalisierten Fullerenkomponenten kann nach Auffassung der Untersucher deren Toxizität minimieren und die biomedizinische Anwendung dieser neuen Materialien erleichtern.

Auch *Yamago et al. (1995)*, zitiert in *Sweet und Strohm (2006)*, stellten für wasserlösliche Fulleren-Derivate eine vergleichsweise geringe akute Toxizität fest. Die von ihnen behandelten Mäuse wiesen nach intraperitonealer Injektion (500 mg/kg) zwar einen vorübergehenden Gewichtsverlust auf, eine erhöhte Letalität war aber nicht zu verzeichnen.

In einer allerdings ökotoxikologischen Untersuchung fand *Eva Oberdörster* heraus, dass wasserlösliche C₆₀-Fullerene Gehirnstörungen und Stresssymptome bei jungen Forellenbarschen verursachen (*Oberdörster 2004*), was nach der Autorin darauf hinweist, dass auch andere Kompartimente unserer Umwelt als das Medium Wasser und ggf. der Mensch betroffen sein könnten. Nach *Krug (2008)* zitiert bei *Boeing und Niemann (2008)* zeigte sich allerdings, dass die von *Eva Oberdörster 2004* gezogene Schlussfolgerung wonach sich die Fullerene in den Gehirnen der Fische angereichert und dort zu Hirnzellschädigungen geführt hätten, falsch sei. In einer von ihm durchgeführten Untersuchung mit Daphnien habe er den Versuch wiederholt und klar nachgewiesen, dass die Peroxide des Lösungsmittels die Schädigung auslösen. Hier stellt sich die Frage, ob die Ergebnisse zur Zelltoxizität bei Daphnien ohne weitere Untersuchung auf die Ergebnisse zur Zelltoxizität bei Forellenbarschen übertragen werden können.

Radomski et al. (2005) zeigten in einer pharmakologischen in vivo-Studie (Ratte), dass C₆₀-Fullerene im Gegensatz zu MWCNT und SWCNT nicht die Blutplättchenaggregation stimulieren und es nicht zu einer vermehrten Bildung von vaskulären Thrombosen kommt.

In vitro-Studien

Adelmann et al. (1994) untersuchten die Effekte von Fullerenen in primären Rinder-Alveolarmakrophagen und HL-60-Makrophagen. Die verabreichten Fullerene reduzierten die Viabilität der Zellen und induzierten eine Steigerung des Gehaltes von proinflammatorischen Zytokinen. Die Effekte waren vergleichbar mit denen von Graphit.

Eine weitere in vitro-Studie mit Applikation von C₆₀ konnte eine gegenüber Quartz verringerte Toxizität, sowie einen moderaten Anstieg der Freisetzung der Zytokine TNF-α und IL-8 zeigen (*Baierl et al. 1996, Baierl und Seidel 1996*).

Nach *Kamat et al. (1998)* können C₆₀-Fullerene verschiedene Formen von oxidativen Schäden in biologischen Membranen verursachen. Die Schädigungen ließen sich an Mikrosomen der Rattenleber nachweisen. Diese seien aber stark von endogenen Antioxidantien und „Scavengern“ reaktiver Sauerstoffspezies beeinflusst.

Schuster et al. (1996) untersuchten ebenfalls zytotoxische Effekte von C₆₀-Derivaten. In ihrer in vitro-Studie applizierten sie elf verschiedene C₆₀-Derivate an mononukleare Zellen des peripheren Blutes sowie an Zelllinien des Affen. Bei Konzentrationen bis zu 100 µM zeigten sich überwiegend keine zytotoxischen Effekte.

Nach *Foley et al. (2002)* können wasserlösliche Fullerenderivate (C₆₁) die externe zelluläre Membran durchqueren und finden sich vorzugsweise in den Mitochondrien wieder. Dieses Ergebnis unterstützt nach den Autoren den potenziellen Gebrauch von Fullerenen als Medikamenten-Trägerstoff.

Rancan et al. (2002) untersuchten in vitro die zytotoxischen Effekte von zwei verschiedenen wasserlöslichen Fulleren(C₆₀)-Derivaten. Während für tris-Malonsäure-Addukte nur geringe Effekte auf das Zellwachstum festgestellt werden konnten, zeigte sich für dendritische Mono-Addukte eine entsprechende Hemmung. Die Fullerene entfalteten ihre toxische Wirkung dann, wenn sie mit UVA- oder UVB-Licht bestrahlt wurden. Der beobachtete Zelltod werde - nach den Autoren - hauptsächlich durch Schädigung der Membrane verursacht und sei abhängig von der UV-Dosis.

Sayes et al. (2004) untersuchten in vitro, ob es Unterschiede in der Zytotoxizität verschiedener Fullerene gibt. Aus ihren Ergebnissen folgern sie, dass Änderungen in der Käfigstruktur der Fullerene einen substanziellen Einfluss auf die Zytotoxizität haben. Mit Anstieg der Anzahl der Hydroxyl- und Carboxylgruppen auf der Oberfläche des Fullerenkäfigs verminderte sich die Zytotoxizität. Unter den verabreichten wasserlöslichen Fullerenen befanden sich Nano-C₆₀, C₃, Na⁺₂₋₃[C₆₀O₇₋₉(OH)₁₂₋₁₅]⁽²⁻³⁾⁻ und C₆₀(OH)₂₄. Nano-C₆₀ generierte substanziell mehr reaktive Sauerstoffspezies (ROS) als andere Fullerene. Die ROS-Bildung nahm mit steigender Derivatisierung des Fullerenkäfigs stetig ab. Die Bedeutung der Zytotoxizität von Nano-C₆₀ erfordert nach Auffassung der Autoren weitere Untersuchungen.

Dementsprechend führten *Sayes et al. (2005)* eine weitere Untersuchung zur Zytotoxizität von Nano-C₆₀, einem Fulleren-Agglomerat, welche sich rasch bildet, wenn reines C₆₀ in Wasser eingebracht wird, durch. Nano-C₆₀ erwies sich zytotoxisch an humanen dermalen Fibroblasten, humanen Leberkrebszellen (HepG2) und neuronalen humanen Astrozyten bei Dosen von deutlich größer als 50 ppb (LC₅₀ = 2-50 ppb) bei einer Exposition über 48 Stunden. Das verabreichte Fulleren stört die normale zelluläre Funktion durch Lipidperoxidation. Für die Membranschädigungen sind entstandene reaktive Sauerstoffspezies verantwortlich. Die mitochondriale Aktivität sowie die DNA-Konzentration werden durch das Einbringen von Nano-C₆₀ in Zellkulturen dagegen nicht beeinflusst.

Nach *Fortner et al. (2005)* hängen die Risiken, welche mit C₆₀-Fullerenen assoziiert werden, unter anderem von deren Aggregatzuständen ab. Somit sei eine differenzierte Betrachtung erforderlich. Wenn C₆₀ unter spezifischen Umständen mit Wasser in Kontakt tritt, formen sich C₆₀-Moleküle spontan zu stabilen Anhäufungen mit nanoskaligen Dimensionen. Die Untersuchungen ergaben, dass sich Farbe, Hydrophobie und Reaktivität von einzelnen C₆₀-Molekülen in dieser Aggregatform wesentlich verändern. In Lösung sind die Anhäufungen kristallin und bleiben während des Formations- bzw. Stabilisationsprozesse unverändert. Die Autoren konnten nachweisen, dass sich mit zunehmender Anzahl der Molekülfragmente die Zytotoxizität stetig verringert und fanden so einen Weg, die Toxizität zu reduzieren.

In einer anderen aktuellen Studie zur Toxizität von Fullerenen und Nanoröhren konnten dagegen für Buckyballs (C₆₀) keine wesentlichen adversen Effekte nachgewiesen werden (*Jia et al. 2005*).

Zhao et al. (2005) konnten per Computersimulation einen potenziellen negativen Einfluss von C₆₀-Fullerenen auf die Struktur, Stabilität und Funktion von DNA-Molekülen nachweisen.

Da Nanomaterialien in den Blutkreislauf übertreten können und dadurch Blutgefäße und speziell vaskuläre Endothelzellen direkt beeinträchtigen können, exponierten *Yamawaki und Iwai (2006)* menschliche Endothelzellen von Nabelvenen. Hierzu wurden Hydroxylfullerene (C₆₀(OH)₂₄; mittlerer Durchmesser: 7,1 +/- 2,4 nm) in Konzentrationen von 1 bis 100 µg/mL verabreicht. Die verabreichten wasserlöslichen Fullerene induzierten dosisabhängig morphologische Veränderungen wie zytosolische Vakuolenbildung und verringerten die Zelldichte. Diese zytotoxischen Störungen und das gehemmte Wachstum der Endothelzellen wurden bei einer maximalen Dosis von 100 µg/mL beobachtet. C₆₀(OH)₂₄ induzierte keine Apoptose, verursachte aber die Akkumulation von bestimmten Proteinen und ermöglichte den autophagischen Zelltod.

Xia et al. (2006) verglichen in vitro die zellulären bzw. zelltoxischen Effekte von einem Fulleren (C₆₀(OH)_m, m=22-26) mit denen von ultrafeinen Partikeln (UFP) aus Los Angeles, Titaniumpulver, Carbon black und Polystyrol (PS)-Nanopartikeln. Hierzu verwendeten sie makrophagische Zelllinien der Maus (RAW 264.7). Die Partikel unterschieden sich hinsichtlich der zellulären Aufnahme, der subzellulären Lokalisation und ihrem Vermögen die Produktion von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) zu katalysieren. Unter den getesteten Nanopartikeln vermochten die UFP und die kationischen PS-Nanosphären eine Produktion von ROS, eine GSH-Depletion sowie toxischen oxidativen Stress zu induzieren. Diese Toxizität beinhaltete mitochondriale Schädigungen durch eine gesteigerte Kalziumaufnahme und strukturelle Schädigungen der Organellen. Obwohl unter abiotischen Bedingungen aktiv, induzierten TiO₂ und das o. g. Fulleren keinen toxischen oxidativen Stress. Während die UFP-induzierten oxidativen Schädigungen mit einer gesteigerten Produktion von TNF-α, einem multifunktionalen Signalstoff, welcher bei Entzündungen beteiligt ist, einhergehen, induzierten kationische PS-Nanosphären mitochondriale Schädigungen und Zelltod ohne Inflammationen. Unter den nichttoxischen Partikeln war das Fulleren das einzige Material, welches eine signifikante Produktion von ROS auslösen konnte. Die Autoren folgern aus ihren Ergebnissen, dass die Abschätzung der ROS-Produktion und die Bildung von oxidativem Stress ein valides Werkzeug darstellt, um die Toxizität von synthetischen und Außenluft-Nanopartikeln zu vergleichen.

Levi et al. (2006) konnten in einer in vitro-Untersuchung zeigen, dass mit C₆₀ behandelte normale und maligne Brustepithelzellen weder Änderungen der Morphologie, des Zellgerüsts und des Zellkreislaufes aufwiesen noch eine Hemmung der Zellproliferation zu verzeichnen war. Nach Auffassung der Autoren wirkt somit unbehandeltes C₆₀ für Zellen nicht toxisch. Fulleren-basierte Nanocarrier könnten daher für biomedizinische Anwendungen benutzt werden. Weiterhin konnte durch die Untersuchungen - den Autoren zufolge - gezeigt werden, dass die in verschiedenen Studien festgestellte Toxizität von ursprünglichen C₆₀

höchstwahrscheinlich auf Lösungseffekte oder auf chemische Modifikationen des C₆₀, welche während der Präparation entstehen, zurückzuführen ist.

Nach *Sweet und Strohm (2006)* konnte in verschiedenen in vitro-Studien mit wasserlöslichen C₆₀-Derivaten, welche polare Ketten an verschiedenen Positionen aufweisen, die Bedeutung der Oberflächenchemie als Determinante für die Toxizität von Fullerenen demonstriert werden.

So induzierten (*Bosi et al. 2004*) Fullerene mit kationischen funktionellen Gruppen signifikante hämolytische Aktivität in menschlichen roten Blutkörperchen und weitere zytotoxische Effekte in humanen Brustkrebszellen, in Rattenleberzellen und in renaltubulären Zellen des Schweins. Neutrale oder anionische Fullerene verursachten keine dieser Reaktionen. Die hämolytische Aktivität korreliert demnach gut mit den oberflächenaktiven Eigenschaften der derivatisierten Fullerene. Die Ergebnisse ihrer Studie untermauern nach Meinung der Autoren die Hypothese, dass in diesem Testsystem der Aufschluss der Zellmembrane der roten Blutkörperchen der verantwortliche Mechanismus bei der Hämolyse ist.

Fazit

Der Kenntnisstand zur Toxikologie von Fullerenen stellt sich, wie von *Fiorito et al. (2006)* zusammengefasst, wie folgt dar:

Es zeigten sich in den meisten der wenigen vorliegenden Studien zur Toxizität von C₆₀-Fullerenen an Human- und Tierzellen keine zytotoxischen Wirkungen. Ihre akute Toxizität aus in vivo-Studien (Gewebe von Versuchstieren) kann als gering bezeichnet werden. Es ist aber nicht bekannt, ob die chronische Exposition gegenüber C₆₀-Fullerenen die biologische Umwelt, in welcher diese Nanopartikel über Jahre verbleiben können, beeinflussen kann. Auf der Basis der bislang vorliegenden Studien scheinen nach *Fiorito et al. (2006)* wahrscheinlich nur (oberflächen)modifizierte Fullerene zytotoxisch zu sein.

Wesentlich ist es daher zukünftig herauszufinden, wie und in welchem Maße sich die Toxizität von unbehandelten und behandelten Fullerenen unterscheidet. Des Weiteren gilt es, die Bedeutung der Oberflächenchemie bzw. -modifikation als Einflussgröße der Toxizität im Detail zu ermitteln.

4.2 Nanoröhren

Für Nanoröhren liegen Ergebnisse aus in vivo- und in vitro-Studien vor, welche im Folgenden getrennt voneinander betrachtet werden.

Generell muss festgestellt werden, dass die vorhandene Datenlage zur Toxizität von Nanoröhren nicht konsistent ist. Es liegen einander widersprechende Ergebnisse vor. Es bleibt weiterhin offen, welche Bedeutung den Verunreinigungen (z.B. Metalle) bei der Toxizität von Nanoröhren zukommt. Die in den jeweiligen Studien eingesetzten CNT unterschieden sich hinsichtlich ihrer Herstellungsverfahren, enthaltenden Verunreinigungen, Metallgehalte und Partikelgröße. Ebenso waren die Expositionszeiten und -höhen sowie die Art der Verabreichung unterschiedlich, was die Vergleichbarkeit der erzielten Ergebnisse erheblich erschwert. Die vorliegenden Ergebnisse aus tierexperimentellen Untersuchungen lassen keine einheitliche Bewertung für Nanoröhren zu. Daher ist zurzeit lediglich eine Auflistung der toxikologischen Befunde aus den einzelnen Studien möglich.

In vivo-Studien

In einer Pilotstudie von *Lam und McClusky (2000) nach Lam et al. (2006)* wurden Mäusen intratracheal Single Walled Carbon Nanotubes (SWCNT) mit einer Nickelverunreinigung von 10% verabreicht. Die gegenüber einer hohen Dosis SWCNT exponierten Mäuse zeigten starke histologische Veränderungen. Besonders charakteristisch waren dabei weitgestreute, auffällige Herde von partikelbeladenen Makrophagen und Riesenzellen sowie u. a. markante Infiltrationen des bronchialen Bindegewebes. Einige der exponierten Mäuse starben unmittelbar nach der intratrachealen Instillation, was von den Autoren auf eine mechanische Blockade der oberen Atemwege zurückgeführt wird.

Die erste veröffentlichte Studie über die Toxizität von CNT (verunreinigt mit Kobalt und Nickel) wurde von *Huczko et al. (2001)* durchgeführt. In diesem Experiment wurde CNT-haltiger Russ intratracheal in Meerschweinchen instilliert. Die Wissenschaftler kamen zu dem Ergebnis, dass Russ mit einem hohen Gehalt an CNT nach 4 Wochen keine Abnormalität der Lungenfunktion und keine messbare Entzündung in Meerschweinchen hervorruft.

In einer subchronischen Studie zu der Studie von *Huczko et al. von 2001* wurden Meerschweinchen 6 verschiedene Typen von MWCNT verabreicht (*Grubek-Jaworska et al. 2006; Huczka et al. 2005* zitiert bei *Helland 2007*). Die Analysen 90 Tage nach der Exposition ergaben geringe Unterschiede für die jeweiligen MWCNT. Übereinstimmend wurden für alle Typen von MWCNT multifocale Granuloma um das Nanomaterial herum, Entzündungsreaktionen der terminalen und respiratorischen Bronchiolen und in einigen Tieren milde Fibrosen in der alveolaren Septa festgestellt.

Untersuchungen von *Lam et al. (2004)* ergaben nach intratrachealer Instillation von SWCNT, Carbon Black und Quarz an Mäusen über 7 und 90 Tage, dass SWCNT toxischer wirken als Carbon Black und Quarz. Die Wissenschaftler verabreichten drei Proben mit jeweils unterschiedlich hergestellten SWCNT und daher unterschiedlichen Metallkontaminationen und -konzentrationen, um Auswirkungen der verschiedenen metallischen Katalysepartikel herauszustellen. Alle drei Proben ergaben unabhängig von den Metall-Verunreinigungen dosisabhängige Schädigungen, in der Hauptsache Granuloma im Lungeninterstitium. Die mit einer hohen Dosis beaufschlagten Lungen von Mäusen zeigten nach 90 Tagen starke Entzündungen im bronchialen und interstitiellen Bindegewebe. Zudem ließen sich Fibrosen und Nekrosen beobachten, die bis in die bindgewebsartige Scheidewand der Alveolargänge reichten. Die Ergebnisse stimmen prinzipiell mit den Ergebnissen der o. g. Pilotstudie von *Lam und McClusky (2000)* überein. Es ist anzumerken, dass das Interesse von *Lam et al. (2004)* nicht primär der Toxizität von Partikel im Nanomaßstab galt, sondern hier die Toxizität der einatembaren CNT-Partikel im Vordergrund stand.

Wahrheit et al. (2004) verabreichten Ratten SWCNT bestehend aus Nanoröhren-Strängen mit einem Durchmesser von ca. 30 nm. Die Metallkontaminationen bestanden zu 5 % aus Nickel und zu 5 % aus Kobalt. Einen Monat nach der intratrachealen Instillation konnten multifokale Granuloma in der Lunge der Ratten beobachtet werden. *Wahrheit et al. (2004)* stellten fest, dass die granulomatösen Schäden in der Lunge der Ratten dosisunabhängig, uneinheitlich und nicht fortschreitend waren. Nach der Exposition gegenüber Graphit mit den gleichen Metallkontaminationen (s.o.) zeigten sich keine toxischen Effekte in der Lunge. Nach den Autoren folgen die von SWCNT verursachten Inflammationen u. U. nicht den üblichen Paradigmen der Toxizität, wie sie beispielsweise für Quarz und Siliziumdioxid bekannt sind. Daher seien für SWCNT neue Mechanismen der Toxizität denkbar. Allgemein dürfte nach *Wahrheit* die Wirkung von SWCNT neben der Partikelgröße auch von der Zusammensetzung und der Oberflächenbeschichtung abhängen.

Analog zu den oben zitierten Studien von *Lam und McClusky (2000)* zeigte sich auch bei den Versuchen von *Wahrheit et al. (2004)*, dass die behandelten Ratten (15 % der Testgruppe)

erst nach einer Exposition hoher Dosen von SWCNT verstarben. Grund hierfür seien mechanische Blockaden der oberen Atemwege, die bei diesen hohen Dosen verursacht werden und nicht etwa die inhärente Lungentoxizität der SWCNT. Die anderen 85 % der Testgruppe, die die ersten 24 Stunden überlebten, zeigten sich auch über einen längeren Beobachtungszeitraum unauffällig. Eine Exposition mit geringeren Dosen (1 mg/kg) führte nicht zu einem Versterben von Versuchstieren.

Nach der Verabreichung von SWCNT mit einer Verunreinigung von 0,23 % Fe über die intrapharyngeale Aspiration zeigten sich nach *Shvedova et al. (2005)* in Mäusen außergewöhnliche dosisabhängige pulmonale Effekte, welche akute Inflammationen und Fibrosen beinhalteten. Es ließ sich ein entsprechender dosisabhängiger Anstieg der Marker für Entzündungsreaktionen, oxidativen Stress und zytotoxische Effekte feststellen. Die gleichen Dosen für Carbon Black und SiO₂ induzierten im Gegensatz zu SWCNT keine Granuloma oder Verdickungen der Alveolarwände. Auch bewirkten diese signifikant schwächere pulmonale Inflammationen und Schädigungen. Darüber hinaus fanden *Shvedova et al.*, dass der Prozess der „bacterial clearance“ bei zusätzlich zu den SWCNT eingeatmeten pathogenen Bakterien signifikant langsamer verläuft. Demzufolge scheinen die SWCNT neben anderen Effekten die allgemeine Resistenz gegenüber bakteriellen Infektionen herabzusetzen.

Nach *Tsuji et al. (2006)* bewirken Nanoröhren („Carbon nanotubes, CNT“) bei Mäusen offensichtlich eine höhere pulmonale Toxizität (Inflammation, Granuloma) als feinskaliger Graphit. Ihr Metallgehalt dürfte die Toxizität beeinflussen. Nach Auffassung der Autoren sind die Beziehungen zwischen der Toxizität und den Partikeleigenschaften komplex.

Müller et al. (2005) charakterisierten die biologische Reaktivität von Nanoröhren in der Rattenlunge und in vitro. Hierzu applizierten sie Sprague-Dawley-Ratten intratracheal (0,5; 2; 5mg) zwei Formen von MWCNT: unbehandelte MWCNT und „Ground-CNT“. Sie erfassten die Persistenz in der Lunge sowie Inflammation und Fibrosen biochemisch und histologisch. MWCNT und „Ground-CNT“ waren auch nach 60 Tagen noch in der Lunge präsent und beide induzierten inflammatorische und fibrotische Reaktionen. Nach 2 Monaten wurde auf pulmonale Läsionen untersucht. Diese Läsionen wurden durch Akkumulationen von großen Nanoröhren-Agglomeraten verursacht. Für „Ground-CNT“ wurde eine größere Verbreitung im Lungenparenchym gefunden. MWNT und „Ground-CNT“ stimulierten die Produktion eines bestimmten Tumornekrosefaktors (TNF- α) in den Lungen der behandelten Versuchstiere. In vitro ließ sich für „Ground-CNT“ eine Induzierung der Produktion des TNF- α von Makrophagen feststellen. Nach Auffassung der Autoren lässt sich aus diesen Ergebnissen folgern, dass Nanoröhren potenziell toxisch für den Menschen sind.

Sato et al. (2005) untersuchten den Einfluß verschiedener MWCNT-Längen auf die Zytotoxizität von MWCNT in humanen THP-1-Leukämie-Zellen in vitro und in vivo im subkutanen Gewebe von Ratten. In der Langzeitstudie in vivo beobachteten die Autoren 4 Wochen nach der Applikation ausschließlich für die 825 nm langen MWCNT eine steigende Entzündungsreaktion in Form von granuliertem Gewebe. Eine große Anzahl der 220 nm langen MWCNT waren in den Phagozyten zu beobachten, davon viele in den Lysosomen. Kontrovers dazu konnten die 825 nm langen MWCNT auch im interzellularen Raum beobachtet werden. Darüber hinaus beobachteten die Autoren in dem Untersuchungszeitraum in vivo für beide CNT-Arten keine schwerwiegenden Entzündungsreaktionen wie Nekrosen, Degeneration oder neutrophiler Infiltration.

Li et al. (2005, 2006) nach *Lam et al. (2006)* untersuchten die Effekte von CNT auf die mitochondriale DNA der Aorta von Mäusen. Hierzu verabreichten sie den Versuchstieren CNT über pharyngeale Aspiration. Sie berichteten von dosisabhängigen Schäden der DNA 7, 28 und 60 Tage nach der Behandlung und schlussfolgerten, dass diese oxidativen Veränderungen das Ergebnis modifizierter Ausprägungen von Entzündungsgenen im Herzen waren. Zur weiteren Untersuchung der Effekte auf das Herz wurden 10 Mäuse mit erhöhtem Choleste-

rin-Gehalt im Blut einmal pro Woche gegenüber SWCNT exponiert. Die Verabreichung erfolgte über insgesamt 8 Wochen. Die Gesamtdosis betrug dabei 20 µg. Nach Beendigung der Exposition beobachteten *Li et al.*, dass der Prozentsatz der Aorta, die mit Plaque überzogen war, in den CNT-behandelten Mäusen signifikant anstieg. Entsprechende Analysen zeigten einen signifikanten Anstieg sklerotischer Läsionen in der aus dem Aortenbogen abgehenden Arterie. Die Autoren folgerten daraus, dass die Effekte im Herz auf die Freisetzung von Zytokinen in den Entzündungsbereichen der Lunge und/oder auf CNT selbst, die die Lunge verlassen haben und in die systemische Zirkulation gelangt sind, beruhen könnten.

Li et al. (2007) untersuchten pathologische Veränderungen in den Bronchien und Alveolen von Mäusen nach intratrachealer Instillation und vergleichend nach Inhalation von MCWNT. Es sollte herausgestellt werden, dass die als Verabreichungspraxis häufig angewandte intratracheale Instillation von MWCNT andere Ergebnisse liefert als die Inhalation. Zur intratrachealen Instillation wurden MWCNT mit einem Durchmesser von 50nm, einer Länge von 10µm, einer Reinheit von 95%, mit 0,2 Gewichtsprozent La und Ni in der Asche, suspendiert in steriler 0,9% Salzlösung mit 1% TWEEN-80 (0,5mg/ml) verwendet.

Nach einer einmaligen Verabreichung von 0,05mg MWCNT je Maus über die intratracheale Instillation in die Lunge wurden die pathologischen Läsionen am 8., 16. und 24. Tag nach der Verabreichung untersucht. Es zeigten sich schwarze „Klumpen“ unterschiedlicher Größe und Morphologie (Agglomerate von MWCNT) verteilt in den Bronchien, die die Bronchien jedoch nicht vollständig blockierten. Die Gewebeproben nach 8 und 16 Tagen zeigten die „Klumpen“ auf dem Auskleidungsepithel der Bronchien ohne offenkundige Entzündungen um die „Verklumpungen“ herum. Nach 24 Tagen traten Entzündungen der Innenwandauskleidung auf. Ähnliche „Klumpen“ in den Alveolen führten mehr und mehr zu schweren Zerstörungen der umgebenden alveolar-vernetzten Struktur.

Bei dem Inhalationsexperiment wurden Mäuse 5, 10 oder 15 Tage exponiert (Versuchsdauer 8, 16 oder 24 Tage). Die Lungendepositionskonzentrationen betrugen insgesamt 0,07mg für die 8-Tage-Gruppe, 0,14 mg für die 16-Tage-Gruppe und 0,21mg für die 24-Tage-Gruppe. Die meisten Aggregationen in den Alveolen waren kleiner als die in den Bronchien und reichten bis in die alveolaren Wände. Als pathologische Läsionen in den Alveolen traten hauptsächlich moderate Zellteilungen und Verdickung der alveolaren Wände auf. Generell war die alveolare Struktur noch erhalten.

Die Autoren vermuten, dass die unterschiedlichen pathologischen Läsionen für die Inhalation im Gegensatz zur intratrachealen Instillation darauf zurückzuführen sind, dass es sich bei der Inhalation um einen physiologischen und aktiven Prozess handelt, und nicht einatembare MWCNT-Partikel nicht dem mukoziliaren Transport unterliegen. Die größeren MWCNT-Aggregationen verteilen sich in den Bronchien, die kleineren in den Alveolen, es kommt zu keiner weiteren „Klumpenbildung“. Zusätzlich ist es möglich, dass die über Inhalation in die Alveolen gelangten Partikelaggregate phagozytiert und mit den alveolaren Makrophagen abtransportiert werden.

Fazit in vivo-Studien

Zusammenfassend lässt sich für in vivo-Untersuchungen sagen, dass in wenigen Studien akute inflammatorische pulmonale Effekte nach intratrachealer Verabreichung von sehr hohen Dosen von CNT an Nagetieren (Ratten und Mäuse) beobachtet werden konnten (*Lam et McClusky (2000) nach Lam et al. (2006), Oberdörster et al. (2005a) nach Wahrheit et al. 2004, Lam et al. 2004, Shvedova et al. (2005)*). Hier kam es zur Bildung von Granuloma als Folge der Exposition gegenüber hohen Dosen von persistenten Partikeln. Die akuten Effekte werden aber auf eine Obstruktion der Atemwege bei hohen Dosen von instillierten, hoch aggregierten CNT zurückgeführt und seien kein Effekt von CNT an sich (*Wahrheit et al. 2004*). Die Agglomeration von CNT in Nanoropes scheint eine Verabreichung von Partikeln an Versuchstiere zu erschweren. Da die Bildung von Agglomeraten zu einer mechanischen Blockade der oberen Atemwege führen kann (*Tagmatarchis und Prato 2004 zitiert bei Helland et al.*

2007). Laut *Li et al. (2007)*, müssten nach verschiedenen Wissenschaftlern wie *Wahrheit (2006)*, *Hurt et al. (2006)*; *Müller et al. (2006)* Inhalations-Toxizitäts-Studien mit CNT-Aerosolen durchgeführt werden, um realistische Expositionssituationen wiederzugeben. Die Ergebnisse der von *Li et al. (2007)* durchgeführten Untersuchung zur Gegenüberstellung der nach Inhalation und intratrachealer Instillation in den Bronchien und Alveolen aufgetretenen Läsionen (siehe oben) unterstützten diese These.

Außerdem konnten in vergleichbar vielen Studien Fibrosen (*Shvedova et al. 2005*; *Lam et al. 2004*, *Huzcko et al. 2001*, *Müller et al. 2005*) und die Bildung von Granuloma (*Huzcko et al. 2001*, *Lam et al. 2004*, *Wahrheit et al. 2004*, *Tsuji et al. 2006*, *Sato et al. 2005*, *Müller et al. 2005*) festgestellt werden.

In vitro-Studien

Hohe Dosen an SWCNT riefen in Keratinozyten und bronchialen Epithelzellen oxidativen Stress hervor, wie anhand der Bildung von freien Radikalen, der Akkumulation von Peroxidantien und der Verminderung von Zelloxidantien nachgewiesen werden konnte (*Shvedova et al. 2004a, 2004b*).

Ähnliche Versuche mit SWCNT und humanen Keratinozyten von *Manna et al. (2005)* bekräftigen die Hypothese, dass SWCNT die Bildung von ROS (reaktiven Sauerstoffspezies) induzieren und die Zellteilung reduzieren. *Manna et al.* untersuchten verschiedene Zelllinien. In allen Zelllinien wirkten SWCNT-Partikel zytotoxisch. Laut den Autoren deuten die Ergebnisse darauf hin, dass ein bestimmter Signal-Mechanismus von den SWCNT-Partikeln ausgelöst wird und dass der daraus resultierende „down-stream“-Effekt zum Zelltod führt. Die Gabe von SWCNT-Partikeln führte zur Aktivierung von NF- κ B in den Keratinozyten, was *Manna et al.* als einen möglichen Teil des „down stream“ Pfades ansehen.

Nach *Monteiro-Riviere et al. (2005)* zeigten MWCNT in vitro proinflammatorische Effekte und eine Inkorporation in Keratinozyten. Hier ist allerdings zu beachten, dass vergleichsweise hohe Dosen appliziert wurden.

Sayes et al. (2006) untersuchten die Zytotoxizität von SWCNT anhand von kultivierten menschlichen dermalen Fibroblasten. Es zeigte sich eine verringerte Zytotoxizität mit steigendem Grad der Seitenwand-Funktionalisation der SWCNT. Weiterhin erwiesen sich „side-wall functionalized“ SWCNT als weniger zytotoxisch als oberflächenstabilisierte SWCNT.

Bottini et al. (2006) verglichen die Toxizität von ursprünglichen und oxidierten Multi Walled Carbon nanotubes (MWCNT), indem sie menschliche T-Zellen exponierten. Oxidierte MWCNT erwiesen sich hierbei als toxischer. Bei Dosen von 400 μ g/L kam es zu einer massiven Verringerung der Überlebensfähigkeit der Zellen. Diese Konzentration korrespondiert mit einer Anzahl von näherungsweise 10 Millionen Nanoröhren pro Zelle. Ursprüngliche, hydrophobe Nanoröhren waren weitaus weniger toxisch. Auch die Verabreichung einer zehnfach geringeren Dosis aus einer Mischung beider Nanoröhren-Typen erwies sich als nicht annähernd so toxisch.

Nach *Cui et al. (2005)* vermögen SWCNT durch Zellapoptose und verringertem zellulären Adhäsionsvermögen das Wachstum von Humanzellen (HEK293) zu hemmen und können daher als zytotoxisch betrachtet werden.

Murr et al. (2005) verglichen in vitro die Zytotoxizität von kommerziellen SWCNT und zwei verschiedenen MWCNT anhand von makrophagischen Zelllinien aus der Lunge der Maus. Als Toxizitätskontrolle verwendeten sie nanoskaliges Asbest (Chrysotil) und Carbon black-Nanoaggregate. Es zeigte sich eine stark konzentrationsabhängige Toxizität für alle Nano-

röhren ähnlich der von Asbest und Carbon black. Die Autoren stellten fest, dass kommerzielle MWCNT, die diese Toxizitätsreaktionen hervorriefen, hinsichtlich der Struktur identisch mit MWCNT sind, die ubiquitär in der Umwelt und speziell in Innenräumen vorkommen.

In einer anderen Publikation berichten *Murr et al.* (2006) über eine signifikante Zytotoxizität für MWCNT und Carbon black, welche sie nach Kurzzeit- (2Tage) und Langzeitexposition (2 Wochen) an makrophagischen Zelllinien der Maus zeigen konnten. Diese Effekte waren nach Auffassung der Autoren mit denen von nanoskaligem Asbest (Chrysotil) vergleichbar.

Wick et al. (2006) versuchten herauszustellen, inwieweit der Dispersionsgrad und die Agglomeration Einfluss auf die Zytotoxizität von CNT haben und inwieweit sich die Zytotoxizität von CNT mit der Zytotoxizität von Asbest vergleichen lässt. Dazu wurden aus demselben Rohmaterial unterschiedliche Qualitäten von Suspensionen hergestellt und im gleichen in vitro Test (Zytotoxizitätsstudie mit humanen MSTO-211H-Zellen) eingesetzt: CNT Rohmaterial, CNT-Agglomerate, CNT-Pellets, CNT-Bündel. Zusätzlich wurde ein Zytotoxizitätstest mit Asbest („Crocidolite“) durchgeführt. Während die suspendierten CNT-Bündel weniger zytotoxisch als Asbest waren, induzierten die „Strick“ ähnlichen Agglomerate ausgeprägtere zytotoxische Effekte als die gleiche Konzentration von Asbestfasern. Das ist nach Meinung der Wissenschaftler darauf zurückzuführen, dass die CNT-Agglomerate größer, steifer und fester (ähnlich wie bei Asbest) als die CNT-Bündel sind. Nach den Autoren unterstreicht dieser Befund die Notwendigkeit der Charakterisierung des Untersuchungsmaterials vor der Durchführung toxikologischer Tests und stellt die Bedeutung der Agglomeration für die zytotoxischen Effekte von Nanomaterialien heraus.

Soto et al. (2005) untersuchten an makrophagischen Zelllinien aus der Lunge der Maus die Zytotoxizität von verschiedenen synthetischen Nanopartikeln inklusive Aggregate von SWCNT und MWCNT und Carbon black, Ag, TiO₂, Fe₂O₃, Al₂O₃, ZrO₂, Si₃N₄ sowie Chrysotil-Asbest-Aggregate. Die primäre Größe der Partikel reichte von 3 bis 150 nm, die längliche Ausbreitung der röhrenförmigen Komponenten betrug bis zu 15 µm. Die Aggregate besaßen eine Größe von 25 nm bis 20 µm. Die Chrysotil-Asbest-Aggregate dienten als positive Kontrolle. Deren Zytotoxizität wurde mit dem Index 1 versehen. Die bei einer Konzentration von 5 µg/m³ beobachtete relative Zytotoxizität der untersuchten Nanopartikel betrug: 1,6 und ca. 0,4 für Ag und TiO₂, 0,7-0,9 für Fe₂O₃, Al₂O₃ und ZrO₂, 0,4 für Si₃N₄, 0,8 für Carbon black sowie 0,9-1,1 für die verschiedenen CNT. Somit zeigte sich für die CNT eine Zytotoxizität, die mit der von Chrysotil-Asbest-Aggregaten vergleichbar ist. Die zytotoxischen MWCNT ähnelten dabei den in der Umwelt vorkommenden MWCNT anthropogenen Ursprungs. Nach Auffassung der Autoren geben diese Ergebnisse Anlass zur Besorgnis bzgl. potenzieller Gesundheitseffekte, insbesondere nach langfristiger Exposition.

In einer Arbeit von der Forschungsgruppe des U.S. Department of Energy's Lawrence Berkeley National Laboratory (*Yarris et al.* 2006) konnte festgestellt werden, dass Nanoröhren, welche mit Schleimstoff-artigen Polymeren beschichtet sind, nicht toxisch auf Zellen wirken.

Fiorito et al. (2006) führten in vitro-Untersuchungen durch, um zu prüfen, ob SWCNT und C₆₀-Fullerene an Makrophagen-Zellen des Menschen und der Maus inflammatorische Reaktionen hervorrufen und für diese Zellen zytotoxisch sind. Dies verglichen sie mit den Entzündungsreaktionen und der Zytotoxizität von Graphit. C₆₀-Fullerene und reine SWCNT induzierten in einem geringeren Prozentsatz von Zellen Apoptose, Zelltod und Stoffwechseländerungen als Graphitpartikel und nicht reine sowie „offene“ SWCNT. Auch aktivierten C₆₀-Fullerene und reine SWCNT Makrophagenzellen in einem geringen Ausmaß als die anderen Nanomaterialien. Insgesamt folgern die Autoren, dass reine und nicht mit Graphit und katalysatorischen Stoffen beladene CNT keine inflammatorischen Reaktionen in den Humanzellen in vitro stimulieren und weniger zytotoxisch für diese Zellen sind.

Mehrere Studien berichten über den Einfluss von CNT-Substraten (CNT-beschichtete Oberflächen) auf das Wachstum von neuronalen Strukturen (*Helland et al.*, 2007). Die beiden

Forschergruppen um *Hu* und *Liopo* beschäftigten sich mit dem Einfluss der Substrate auf Morphologie und Zellwachstum, jedoch weniger mit der Toxizität der suspendierten CNT.

- Bei einem Vergleich der Substrate mit funktionalisierten MWCNT gegenüber nicht-funktionalisierten MWCNTs stellten *Hu et al. (2004 und 2005, zitiert bei Helland et al. 2007)* fest, dass sich bei ersteren ein erhöhtes Wachstum von Neuriten (Anzahl und Länge) ergab. Funktionalisierungen wurden von *Hu* mit Hilfe von Poly-m-Aminobenzol-Sulfonsäure, Ethylen-di-Amin und mit Poly-Ethelyn-Imin vorgenommen. Neben den Ergebnissen hinsichtlich des Wachstums der Neuriten, beobachteten die Forscher ebenfalls eine erhöhte Leistung der neuronalen Zellen im Falle der mit Poly-Ethylen-Imin funktionalisierten MWCNTs gegenüber den nicht-funktionalisierten MWCNTs. Darüber hinaus untersuchten *Hu et al.* die Möglichkeit, das Neuriten-Wachstum mit Hilfe unterschiedlicher Oberflächenspannung bei modifizierten MWCNTs zu kontrollieren. Mit Poly-Ethylen-Imin funktionalisierte Materialien lösten stärkeres Neuriten-Wachstum aus als modifizierte MWCNTs.
- Ähnliche Studien der Forschergruppe um *Liopo (Liopo et al. 2006, zitiert bei Helland et al. 2007)* bestätigten, dass SWCNT-beschichtete Oberflächen das Zellwachstum unterstützten, allerdings in einem geringeren Maße als Polystyrol. Eine Funktionalisierung wurde bei *Liopo et al.* mit Hilfe von 4-Benzoe-Säure und des weiteren mit 4-tertiär-Butylphenyl durchgeführt.

Die Ergebnisse einer Untersuchung von *Pulskamp et al. (2007)* weisen darauf hin, dass CNT die Zellmembran von Ratten-Makrophagen überwinden und somit Einfluss auf die Zellfunktion nehmen könnten. Ratten-Makrophagen (NR 8383) und humane A 549 Lungenzellen wurden jeweils mit kommerziellen SWCNT (NT-1), MWCNT (NT-2 und NT-3) und mit einem CNT-Präparat mit reduziertem Gehalt an Metallkatalysator inkubiert. Keine der o. g. Carbon Nanotubes zeigten Anzeichen für eine akute Wirkung auf die Lebensfähigkeit der Zellen. Kein CNT-Produkt induzierte die Entzündungs-Mediatoren NO, TNF- α und IL-8. Bei der Untersuchung der Lipopolysaccharid abhängigen Reaktion in den Makrophagen konnte eine steigende Tendenz der TNF- α Freisetzung festgestellt werden. Darüber hinaus zeigte sich in beiden Zelltypen (NR 8383 und A 549) nach Zugabe der CNT ohne reduzierten Metallkatalysatorgehalt ein Zeit- und Dosis-abhängiger Anstieg der intrazellulären reaktiven Sauerstoffspezies und eine Abnahme des Membranpotentials der Mitochondrien. Die Nanotubes mit dem reduzierten Metallgehalt induzierten keine Effekte. Die Autoren kamen zu dem Schluss, dass die in den Nanotubes enthaltenen Metall-Verunreinigungen für die biologischen Effekte verantwortlich seien.

Kagan et al. (2006) untersuchten den direkten und indirekten Einfluss von SWCNT auf die RAW 264.7 Makrophagen und versuchten in diesem Zusammenhang den Einfluss des Eisengehaltes der SWCNT zu ermitteln. Dazu wurden zwei unterschiedliche SWCNT-Materialien eingesetzt: ungereinigte SWCNT mit einem Eisengehalt von 26 wt% und gereinigte SWCNT mit einem Eisengehalt von 0,23 wt%. Appliziert wurden gut disperse und getrennte SWCNT-Fasern. An einem zellfreien Modellsystem zeigten die SWCNT-Materialien mit unterschiedlichem Metallgehalt unterschiedliche Redoxaktivitäten. In der Gegenwart von Zymosan-stimulierten RAW 264.7 Makrophagen wandelten die ungereinigten SWCNT Superoxid-Radikale effektiver in Hydroxyl-Radikale um als die gereinigten. Aufgrund dieser und weiterer Ergebnisse kamen die Autoren zu der Schlussfolgerung, dass die Anwesenheit von Eisen bei der Bestimmung der Redox-abhängigen Antwort von Makrophagen eine wichtige Rolle spielen könnte.

Wörle-Knirsch et al. (2006) wollten herausfinden, warum Toxizitätsstudien mit gleichen Nanotubes teilweise zu unterschiedlichen Ergebnissen führen. Untersuchungen an humanen A549 Lungen-Epithel-ähnlichen Zellen, die mit SWCNT inkubiert wurden, ergaben (MTT-Verfahren) nach 24 h einen starken zytotoxischen Effekt von ca. 50%. Die gleiche Untersuchung, in der die Zytotoxizität über ein anderes Verfahren (WST-1 Verfahren) ermittelt wird,

zeigte keine Zytotoxizität an. Die LDH- oder FACS unterstützte mitochondriale Membranpotential-Bestimmung und die Annexin-V/PI-Färbung zeigten ebenfalls keine Zytotoxizität an. Demnach scheinen die SWCNT mit einigen Tetrazolium-Salzen wie sie beispielsweise bei dem MTT-Verfahren vorkommen zu interagieren, mit anderen (wie bei WST-1, INT, XTT) nicht. Die Autoren folgern, dass Ergebnisse aus Zytotoxizitätstests mit Nanomaterialien mit zwei oder mehr voneinander unabhängigen Testverfahren verifiziert werden müssten und dass darüber hinaus die Standardisierung von Untersuchungsverfahren zur Toxizität von Nanomaterialien dringend erforderlich sei.

Ding et al. (2005) untersuchten *in vitro* an Humanfibroblasten der Haut die zytotoxischen Mechanismen von MWCNT und MWCNO (Multi Walled Carbon Nano-Onions). Hierbei zeigten sich für MWCNT mehr adverse Effekte als für MWCNO. MWCNT und MWCNO induzierten beide bei entsprechenden Dosen ein Anhalten des Zellzyklus sowie eine Steigerung der Apoptose/Nekrose. Die geprüften Materialien riefen spezifische Veränderungen von Zellfunktionen hervor. Es wurden des Weiteren qualitative und quantitative Unterschiede zwischen den Genexpressionsprofilen von MWCNT und MWCNO nachgewiesen. Die Exposition gegenüber MWCNT und MWCNO aktivierte Gene, die beim Zelltransport und Metabolismus, der Zellzyklusregulation und der Stressantwort beteiligt sind. MWCNT induzierten Gene, welche charakteristisch sind für eine starke Immun- und Inflammationsantwort. MWCNO-Änderungen dagegen konzentrieren sich auf Gene, die bei der Reaktion auf externe Stimulationen aktiv sind.

Magrez et al. (2006) untersuchten die Zelltoxizität von kohlenstoffbasierten Nanomaterialien (CBN) in Abhängigkeit von deren Länge/Durchmesser-Verhältnis und Oberflächenchemie. Für MWCNT (mittlerer Durchmesser 20 nm, Länge/Durchmesser-Verhältnisse von 80 bis 90), Kohlenstoffnanofasern (CNF; mittlerer Durchmesser 150 nm, Länge/Durchmesser-Verhältnisse 30 bis 40) und Carbon Black (Länge/Durchmesser-Verhältnis von ca. 1, Partikelgrößenverteilung im Submikrometerbereich) wurde hierbei *in vitro* die Toxizität an drei verschiedenen Lungentumorzelllinien (H596, H446, Calu 1) getestet.

Es zeigten sich für alle Materialien zelltoxische Effekte, die zudem von der Größe der Nanomaterialien abhängig waren. Ferner erhöhte sich die Toxizität, wenn die Partikeloberfläche durch eine Säurebehandlung funktionalisiert wurde.

Die zelltoxischen Effekte waren für alle verabreichten Nanomaterialien in allen drei Zelltypen konzentrationsabhängig.

Nach Exposition gegenüber geringen Konzentrationen (0,002 bis 0,02 µg/mL) ließen sich die stärksten zelltoxischen Effekte (geringste Anzahl an lebensfähigen Zellen) für Carbon black, gefolgt von CNF und MWCNT, beobachten. Somit erwiesen sich in dieser Untersuchung die faserförmigen Nanomaterialien als weniger toxisch als die Nanopartikel.

Bei hohen Konzentrationen (0,2 µg/mL) verminderten sich die Unterschiede in der Toxizität, insbesondere zwischen CNF und Carbon black. MWCNT waren weitaus weniger toxisch.

Die beobachtete Abhängigkeit der Toxizität vom Länge/Durchmesser-Verhältnis kann nach Auffassung der Autoren mit dem Vorhandensein von freien bzw. ungesättigten, u. U. hoch reaktiven Verbindungen, begründet sein. In Carbon black kämen diese in einer hohen Dichte vor, wohingegen sie in MWCNT vorzugsweise nur als Gitterdefekte oder Endkappen auftreten.

Um den Einfluss der Oberflächenchemie auf die Toxizität zu untersuchen, wurde die Oberfläche von MWCNT und CNF einer Säurebehandlung unterzogen. Hierdurch wurden den Nanomaterialien Carbonyl-, Carboxyl- und/oder Hydroxylgruppen angefügt. Es zeigte sich dadurch ein deutlicher Anstieg der Toxizität für MWCNT und ein moderater für CNF. Letzteres lässt sich nach den Autoren evtl. damit erklären, dass die Toxizität von unbehandelten CNF schon vergleichsweise hoch ist und nicht mehr nennenswert gesteigert werden kann. Nach Meinung der Autoren zeigen die Ergebnisse deutlich, dass das Hinzufügen von reaktiven chemischen Gruppen auf die Oberfläche von MWCNT die Anzahl von lebensfähigen Zellen reduziert und somit die Zelltoxizität erhöht.

Die Autoren schlussfolgern, dass kohlenstoffbasierte Nanomaterialien zu einer Hemmung des Zellwachstums und zum Zelltod führen. MWCNT seien weniger toxisch als Kohlenstoffnanofasern und Kohlenstoffnanopartikel. Es konnte gezeigt werden, dass sich die Toxizität von MWCNT deutlich erhöht, wenn sich auf deren Oberfläche Carbonyl-, Carboxyl- und/oder Hydroxyl-Gruppen befinden. Die exakten Mechanismen, die zum Zelltod führen, seien bislang aber unklar. CBN könnten den Zelltod nach Kontakt mit Zellmembranen oder nach Zelleinschluss induzieren.

Fazit in vitro-Studien

Nach *Shvedova et al. (2004a, 2004b)* kann zusammengefasst werden, dass für Nanoröhren in in vitro-Studien signifikante toxische Effekte festgestellt werden konnten. Nach Exposition von Keratinozyten und bronchialen Epithelialzellen gegenüber SWCNT kam es zu oxidativem Stress, hervorgerufen durch Bildung von freien Radikalen, Akkumulation von peroxidativen Produkten und Verarmung an Zelloxidantien. Eine profunde Zytotoxizität (Änderung der mitochondrialen Funktion, Zellmorphologie, phagozytischen Funktion) wurde für SWCNT auch bei geringen Konzentrationen ($0,38 \mu\text{g}/\text{m}^3$) gesehen. Ob metallische Verunreinigungen der Nanoröhren das Reaktionsgeschehen ändern, muss noch geklärt werden.

Die Versuche von *Manna et al.* bekräftigen, dass SWCNT die Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies induzieren.

Fazit Toxizitätsvergleich, Metaanalysen

In Bezug auf die Vergleichbarkeit der Toxizität von CNT und Asbest kann festgehalten werden, dass *Murr et al. 2005* für kommerzielle SWCNT und zwei verschiedenen MWCNT-Materialien ähnliche Toxizitätsergebnisse wie für nanoskaliges Asbest (Chrysotil) erhielten. In einer anderen Publikation berichten *Murr et al. (2006)* über eine signifikante Zytotoxizität von MWCNT, die nach Auffassung der Autoren vergleichbar mit der von Chrysotil waren. *Wick et al. (2006)* fanden für strickähnliche CNT-Agglomerate ausgeprägtere zytotoxische Effekte als für die gleiche Konzentration von Asbestfasern (Krokydolith). Nach Meinung der Wissenschaftler sind die CNT-Agglomerate von der Größe, der Steifigkeit und der Festigkeit dem Asbest ähnlich. Nach *Soto et al. (2005)* zeigte sich für MWCNT und SWCNT eine Zytotoxizität, die mit der von Chrysotil-Asbest-Aggregaten vergleichbar ist.

Bei einem Vergleich hinsichtlich der Zytotoxizität der verschiedenen synthetischen Nanopartikel auf Basis der Massenkonzentration lässt sich folgende Rangfolge aufstellen: SWCNT > MWCNT > C₆₀-Fullerene (*Oberdörster et al. 2005a*). Nach *Helland et al. 2007* fanden *Fiorito et al. 2006* in einer Studie mit murinen und humanen Makrophagen, dass bezüglich der Zelltoxizität Graphit die schwerwiegendsten Effekte erzielte, gefolgt von SWCNT und C₆₀-Fullerenen. Letzteres bestätigt die Ergebnisse von *Oberdörster. Jia et al. (2005)* verglichen die Zytotoxizität von SWCNT, MWCNT und C₆₀-Fullerene suspendiert im Zellkulturmedium und fanden die gleiche Rangfolge wie *Oberdörster*.

Bislang ist jedoch unklar, ob und in welchem Maße die für Nanoröhren vor allem in tierexperimentellen Untersuchungen beobachteten adversen Effekte den Nanoröhren selbst oder den in diesen enthaltenden Verunreinigungen (z.B. Metalle) zuzuschreiben sind. So liegen zum einen Erkenntnisse vor, wonach die in der Tierlunge beobachteten Effekte wie Entzündungen und die Bildung von oxidativem Stress auf die Nanoröhren selbst zurückgehen (*Shvedova et al. 2005*). Dies konnte insbesondere bei hochreinen Nanoröhren festgestellt werden. Zum anderen konnte aber auch gezeigt werden, dass Effekte (z.B.: erhöhte Sterblichkeit von Mäusen) den Verunreinigungen durch Metalle zuzuschreiben sind. Die Metalle werden vor allem bei der Ultraschallbehandlung von Nanoröhren freigesetzt (*Lam et al. 2004*).

Gezeigt werden konnte:

- *Pulskamp et al. (2007)*: Metallverunreinigungen in den MWCNT sind für die biologischen Effekte verantwortlich.
- *Kagan et al. (2006)*: SWCNT mit 26% Fe wandeln Superoxid-Radikale effektiver in Hydroxyl-Radikale um als SWCNT mit 0,23% Fe.
- *Wörle-Knirsch et al. (2006)*: bei der Analyse der Zytotoxizität von SWCNT ergibt sich die toxische Wirkung durch die Interaktion der SWCNT mit Tetrazolium-Salzen, die Bestandteil des Analyseverfahrens sind, und nicht aus der Zytotoxizität der SWCNT an sich.
- *Fiorito et al. (2006)*: reine und nicht mit Graphit und katalysatorischen Stoffen beladene SWCNT stimulieren keine inflammatorische Reaktionen in Humanzellen in vitro und sind weniger zytotoxisch.

Diese Befunde unterstützen die Annahme, dass Verunreinigungen wie Metallkatalysatoren oder beispielsweise Interaktionen mit Salzen aus dem Analyseverfahren die Zytotoxizität von Carbon Nanotubes beeinflussen. Nach *Krug (zitiert bei Boeing und Niemann 2008)* zeigt sich bei Kohlenstoff-Nanoröhren, dass Verunreinigungen aus den Katalysatoren, die zur Herstellung von Nanoröhren nötig sind, einen erheblichen Einfluss auf ihre mitunter zelltoxische Wirkung haben.

Donaldson et al. (2006) und *Oberdörster et al (2005a)* kommen bei der Bewertung der pulmonalen Toxizität von Nanoröhren (CNT) in Abhängigkeit von deren Eigenschaften zu einander ähnelnden Schlussfolgerungen. Nach *Donaldson et al. (2006)* können CNT außergewöhnliche toxische Eigenschaften besitzen. Konkret hätten diese die spezielle Fähigkeit, das Wachstum von Mesenchymzellen zu stimulieren und die Bildung von Granuloma und Fibrosen zu verursachen. Nach Auffassung der Autoren wurde anhand der Ergebnisse von Studien verschiedener Forschungsgruppen gezeigt, dass bei gleicher Massenkonzentration CNT mehr adverse Effekte verursachen als Nanopartikel aus Carbon Black und Quarz. Diese Studien haben nach *Donaldson et al. (2006)* gezeigt, dass einige der durch CNT verursachten Effekte durch oxidativen Stress und Inflammationen vermittelt werden.

In einer Metaanalyse sind *Lam et al. (2006)* der Frage der Toxizität von Nanoröhren nachgegangen und haben hierfür die Ergebnisse der ihnen vorliegenden Studien ausgewertet. Bei einem Großteil der Studien handelt es sich um in vivo-Studien. Die Autoren schätzten die arbeitsplatz- und umweltbezogene Gefährdung nach Exposition gegenüber diesen neuartigen synthetischen Nanopartikeln ab. Die Arbeit liefert den Autoren zufolge wichtige Hinweise für eine Konsistenzanalyse der beobachteten adversen Effekte und der diesen zugrundeliegenden Wirkungsmechanismen. Die Betrachtungen der Autoren zu den arbeitsplatzbezogenen Risiken münden in einer abschließenden Empfehlung für einen Arbeitsplatzgrenzwert: Die Konzentration von *einatembarem* Nanoröhren-Staub („*respirable CNT dust*“) soll am Arbeitsplatz demnach einen Wert von 0,1 mg/m³ nicht übersteigen.

Des Weiteren stellen *Lam et al. (2006)* die Hypothese auf, dass MWCNT verantwortlich sein könnten für die in umweltepidemiologischen Studien festgestellte Assoziation zwischen kardiopulmonalen Erkrankungen und einer Belastung durch feine Partikel. Zum einen ließen die Erkenntnisse aus toxikologischen Untersuchungen einen solchen Zusammenhang möglich erscheinen. Zum anderen wurden signifikante Gehalte an MWCNT als Bestandteil feiner Partikel ermittelt, wie entsprechende Messungen in El Paso und Houston im US-amerikanischen Bundesstaat Texas zeigten. Ob ein Zusammenhang zwischen kardiopulmonalen Erkrankungen und einer umweltbezogenen Luftverunreinigung durch MWCNT möglich ist, sollte daher geklärt werden. Die PM_{2,5}-Proben, welche in den entsprechenden epidemiologischen Untersuchungen gesammelt wurden, wären nach *Lam et al. (2006)* auf ihre Gehalte an MWCNT zu untersuchen. Studien ergaben ferner, dass die Schädigungen der Lungenfunktion am stärksten mit Gehalten an elementarem Kohlenstoff korreliert sind. Hieraus leitet sich nach *Lam et al. (2006)* die Frage ab, ob bei Umweltkonzentrationen von elementarem Kohlenstoff relevante Gehalte an MWCNT vorliegen.

Im Gegensatz hierzu halten andere Autoren solch weitreichende Aussagen und Empfehlungen, wie sie *Lam et al. (2006)* für Nanoröhren geben, nicht für gerechtfertigt. So warnen u. a. *Wang et al. (2005)* davor, voreilige Schlüsse zu ziehen, da die Erkenntnisse und das Verständnis der toxikologischen Wirkungen zur Zeit noch zu lückenhaft seien, um entsprechende Schlussfolgerungen zu ziehen. *Wang et al. (2005)* sehen es beispielsweise als unerlässlich an, dass bei vergleichenden Betrachtungen absoluter Messergebnisse lückenlose Angaben zur Art der CNT in Hinsicht auf deren Herstellung, Veredlung (Reinheit und Größenverteilung), zur Dosierung, zur Expositionsdauer usw. vorliegen. Dies sei zurzeit aber noch nicht gegeben. Daher seien die Ergebnisse der einzelnen Studien bislang nicht vollständig replizierbar und damit schlussendlich auch konkrete Empfehlungen nicht möglich.

Helland et al. veröffentlichten 2007 eine Studie, in der sie die aktuelle Literatur im Hinblick auf potenzielle Risiken von CNT auf die menschliche Gesundheit und die Umwelt auswerten (inkl. Interviews mit 7 in diesem Bereich führenden Wissenschaftlern):

<http://www.ehponline.org/docs/2007/9652/suppl.pdf>).

Die Autoren fassten zusammen, dass CNT von verschiedenen Zelltypen aufgenommen werden und diverse Effekte in den Zellen hervorrufen. Eine erste und schnelle Reaktion ist die Bildung von freien Radikalen (oxidativer Stress), welche z.B. von *Nel et al. 2006* als Schlüsselfaktoren bei den weiteren Zellreaktionen angesehen werden. Ebenso wurden mehrere zellbiologische Effekte und Veränderungen in Gen-Expressions-Mustern beschrieben.

Nach *Helland* ist aufgrund des unterschiedlichen CNT-Materials und der unterschiedlichen Suspensions-Verfahren eine quantitative und vergleichende Stellungnahme zur Zelltoxizität in verschiedenen Zelltypen und Geweben nahezu unmöglich.

In welcher Konzentration CNT in den Blutkreislauf eindringen, z.B. über den alveolaren Weg, und ob Organismen fähig sind, unbehandelte CNT zu eliminieren, bleibt ungeklärt.

Ebenso liegt nach *Helland et al. (2007)* zurzeit keine Untersuchung zum biologischen Abbaumechanismus von CNT vor, der die Eliminierung aus den Organismen beschreiben könnte. Agglomeration und Immobilisierung von CNT im Gewebe (z.B. Lungengewebe) seien jedoch beobachtet worden.

Abhängig vom Lebenszyklus und dem Schicksal des CNT-Produktes könnten sich, bedingt durch die Veränderung der äußeren physikalischen und chemischen Einflüsse in jedem Stadium, unterschiedliche (Umwelt-) Gesundheitseffekte des CNT-Produktes ergeben. So zeigten einige Studien, dass die Funktionalisierung von CNT die Mobilität der CNT beeinflussen und eine Abnahme der Toxizität zur Folge haben könnte. Demnach könnte die Funktionalisierung ein Schlüsselparameter beim Einfluss der CNTs auf die menschliche Gesundheit und die Umwelt sein.

Die Interviews mit den 7 führenden Wissenschaftlern ergaben die im vorliegenden Bericht bereits dargestellten Forderungen nach der Standardisierung des Materials, der Testdurchführung usw. Darüber hinaus wurden Überlegungen angestellt, analog zu den für verschiedene Gruppen toxischer Substanzen bereits etablierten Toxizitätsäquivalenzfaktoren (TEFs), für CNT vergleichbare Faktoren einzuführen, die die einzelnen nanospezifischen Eigenschaften des Materials (z.B. Partikelgröße, Länge/Durchmesser-Verhältnis, Agglomerationsgrad) berücksichtigen würden. Dazu müssten Untersuchungen bezüglich der Mechanismen und Dosis abhängigen Reaktionen vorgenommen werden.

Als Anhang ist dem Bericht eine Tabelle beigefügt, die eine Übersicht über in vivo- und in vitro-Studien zur Toxizität von CNT geben soll. Die Tabelle erhebt keinen Anspruch auf Vollständigkeit.

4.3 Quantenpunkte

Für Quantenpunkte (QD) wurden bisher in wenigen in vitro- und in vivo-Studien für verschiedene QD-Typen zytotoxische Effekte sowie Schädigungen der DNA ermittelt (*Dubertret et al. 2002, Lovric et al. 2005, Shiohara et al. 2004, Hoshino et al. 2004a, Hoshino et al. 2004b*). So konnten beispielsweise *Derfus et al. (2004)* an Leberzellen der Ratte nachweisen, dass Quantenpunkte aus CdSe unter bestimmten Voraussetzungen, die von der Art der Beschichtung abhängen, zytotoxische Wirkungen besitzen.

Es ließen sich für Quantenpunkte mit und ohne Ummantelung („Coating“) und auch bei alleiniger Verabreichung von verschiedenen Ummantelungsmaterialien zytotoxische Effekte nachweisen. Insgesamt besteht aber auf Basis der spärlichen Datenlage die Auffassung, dass die gefundenen zytotoxischen Effekte vornehmlich den Bestandteilen des QD-Kerns wie Metallen (Cadmium) zuzuschreiben sein dürften.

Die An- u. Abwesenheit und Zusammensetzung der Oberflächenummantelung macht die Beurteilung der Toxizität von Quantenpunkten recht komplex. Zudem ist bislang unbekannt, wie lange diese „Coatings“ auf den Nanopartikeln überhaupt verbleiben. An Zellkulturen konnte gezeigt werden, dass die „Coatings“ abgetragen werden können. In entsprechenden toxikologischen Studien konnte festgestellt werden, dass QD zunächst mit „Coating“ nicht toxisch waren. Nach Abtragung der „Coatings“ durch Luft oder ultravioletter Strahlung (in weniger als 30 min), wirkten die QD dagegen sehr toxisch auf Zellen (*Derfus et al. 2004*).

Auch *Kirchner et al. (2004)* untersuchten den Einfluss unterschiedlicher Oberflächenstrukturen/-beschichtungen von Quantenpunkten (CdSe- oder CdSe/ZnS- Nanopartikel) auf die Zytotoxizität. In ihrer in vitro-Studie mit verschiedenen Zelllinien fanden sie heraus, dass die Freisetzung von Cd²⁺-Ionen in erster Linie für die zytotoxischen Effekte auf die Zelle verantwortlich war. Darüber hinaus scheint es wichtig, an welcher Stelle die Cd²⁺-Ionen freigesetzt werden; befindet sich das Partikel bereits in der Zelle und spaltet sich hier das Cd²⁺-Ion ab, treten stärkere zytotoxische Effekte auf, als wenn das Ion außerhalb der Zelle abgespalten wird. In Übereinstimmung mit anderen Studien zeigten die Untersuchungen, dass die Chemie der Partikeloberfläche und damit einhergehend die Freisetzung von toxischen Molekülen einen dominanten Einfluss auf das zytotoxische Verhalten der Partikel hat.

Zu erwähnen ist ferner, dass zytotoxische Effekte in Studien zu Quantenpunkten gefunden wurden, bei denen die Expositionsdauer vergleichsweise hoch war (2 h bis mehrere Tage). Dagegen konnten in Untersuchungen mit sehr kurzen Expositionszeiten (15 min bis 8 h) keine zytotoxischen Effekte nachgewiesen werden (*Hardman 2006*).

Es liegen für Quantenpunkte allerdings auch verschiedene in vivo- und in vitro-Studien vor, in denen keine zytotoxischen Effekte nachgewiesen werden konnten (*Ballou et al. 2004, Jaiswal et al. 2003, Larson et al. 2003, Voura et al. 2004, Hanaki et al. 2003, Hoshino et al. 2004a*). In diesen Studien wurden Quantenpunkte mit einem CdSe-Kern und einer Außenhaut aus ZnS sowie „Coatings“ verschiedener Materialien untersucht. In den entsprechenden in vitro-Studien konnte kein Effekt auf das Zellwachstum bzw. auf die Überlebensfähigkeit der Zellen festgestellt werden. In der Studie von *Chen und Gerion (2004)* zeigte sich nur ein minimaler Einfluss auf die Überlebensfähigkeit von Zellen. Die Forschergruppe des U.S. Department of Energy's Lawrence Berkeley National Laboratory (*Krotz et al. 2006*) fand bei Untersuchungen zur Biokompatibilität heraus, dass speziell beschichtete Quantenpunkte nur einen minimalen Einfluss auf Zellen besitzen. Auch in verschiedenen in vivo-Studien (*Ballou et al. 2004, Larson et al. 2003, Voura et al. 2004, Hoshino et al. 2004a*) zeigten sich nach Exposition der Versuchstiere Maus und Ratte keine toxischen Effekte. Eine in vivo Untersuchung an Mäusen von *Yang et al. (2007)* mit oberflächenmodifizierten Quanten dots (modifi-

ziert mit PEG-500, einem inerten biologisch kompatiblen Polymer) ergab eine „sinusoidale“ Anhäufung und ein Anstieg der multinukleären Riesenzellen in den vaskulären Bereichen der Milz (zur näheren Beschreibung der Untersuchung siehe auch S.9).

Nach Auffassung von *Kirchner et al. (2004)* können Cadmium-haltige Nanopartikel nicht als vollständig biologisch verträglich angesehen werden. Abhängig von der Versuchsanordnung könnten aber Bedingungen geschaffen werden, bei denen keine zytotoxischen Effekte auftreten.

Kirchner et al. (2005) konnten zeigen, dass in mikroskalige Polymerkapseln eingebettete CdTe-Nanopartikel in Form von potenziell toxischen Ionen durch die Kapselwände diffundieren können. Deswegen seien diese in Bezug auf zytotoxische Effekte relevant. Bei der Auswahl der Nanopartikel, welche in Kapseln einbettet werden, sei daher sorgsam vorzugehen und es sollten zelltoxische Nanopartikel vermieden werden.

Chan et al. (2006) untersuchten in vitro die Unterschiede in der Zelltoxizität zwischen Quantenpunkten (QD) mit CdSe-Kern und Quantenpunkten mit einem Coating aus ZnS um den CdSe-Kern. Danach induzieren QD mit einem CdSe-Kern in Human-Neuroblasten (IMR 32) apoptotische, biochemische Veränderungen inklusive JNL-Aktivierung, Verlust des mitochondrialen Membranpotentials, mitochondriale Freisetzung von Cytochrom C und Aktivierung von Caspase 8 und Caspase 3. Überaus bedeutsam ist, dass die Behandlung von IMR-32-Zellen mit QD inklusive CdSe-Kern auch eine Vermehrung von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) auslöste und eine Hemmung von überlebensbedeutsamen Signalereignissen mit sich brachte. Diese apoptotischen, biochemischen Veränderungen wurden nicht in Zellen nachgewiesen die gegenüber QD inklusive CdSe-Kern und einem Coating aus ZnS exponiert wurden. Somit kann nach Meinung der Autoren ein Coating aus ZnS die Zytotoxizität von Quantenpunkten effektiv reduzieren.

Nach *Zhang et al. (2006)* zeigen die Ergebnisse ihrer experimentellen Untersuchung, dass mit Polyethylenglykol (PEG) ummantelte silanisierte CdSe/ZnS-Quantenpunkte eine vernachlässigbare Toxizität besitzen. Um die molekulare und zelluläre Reaktion zu testen, wurden Humanfibroblasten der Haut und der Lunge (HSF42, IMR90) gegenüber den o. g. Quantenpunkten in zwei unterschiedlichen Dosen (8 and 80 nM) exponiert. Diese PEG-Siliziumwasserstoff-Quantenpunkte induzierten in Lungenfibroblasten, unabhängig von der verabreichten Dosis, keine statistisch signifikanten Änderungen des Zellzyklus und nur einen minimalen Anstieg der Apoptose/Nekrose. Bei Exposition der Hautfibroblasten gegenüber der geringen und der hohen Dosis ließ sich ausschließlich ein leichter Anstieg für die Apoptose/Nekrose beobachten. Demnach seien nach den Autoren mit PEG ummantelte silanisierte Quantenpunkte hinsichtlich ihrer biomedizinischen Verwendung eine vielversprechende Alternative zu nichtumantelten QD.

Fazit

Es liegen insgesamt nur wenige Studien zur Toxizität von Quantenpunkten vor. Auch ist anzumerken, dass eigens konzipierte toxikologische Untersuchungen zu Quantenpunkten nahezu vollständig fehlen. Viele Studien behandelten die Toxizität nur am Rande und wurden nicht von Toxikologen durchgeführt. Es wurden zudem keine normierten und standardisierten Materialien eingesetzt. So wurden in den durchgeführten Untersuchungen unterschiedliche Expositionskonzentrationen bzw. Dosen unterschiedlicher Metrik verabreicht. Auch wurden Quantenpunkte mit unterschiedlichen physikochemischen Eigenschaften eingesetzt. Eine Vergleichbarkeit der Studienergebnisse untereinander ist daher nahezu unmöglich (*Hardman 2006*).

Die Erkenntnisse zur Toxizität von Quantenpunkten müssen also insgesamt als sehr begrenzt bezeichnet werden, wobei wie zuvor gesagt, viele Faktoren Einfluss nehmen können. Alles in allem lässt sich aus den Ergebnissen der vorliegenden Untersuchungen folgern,

dass einerseits die gesundheitlichen Wirkungen von Quantenpunkten nicht geklärt sind, andererseits - unter bestimmten Bedingungen – ein gesundheitliches Gefährdungspotenzial für den Menschen nicht ausgeschlossen werden kann (*Hardman 2006*).

4.4 Weitere neuartige synthetische Nanopartikel

Neben den neuartigen synthetischen Nanopartikeln wie Fullerenen und Nanoröhren spielen in der Nanotechnologie noch weitere NSNP wie Dendrimere, Nanokomposite und Metall/Metalloxid-Nanopartikel (SiO_2 , TiO_2 , Al_2O_3 , Fe_3O_4 , Fe_2O_3 , ZrO_2 , ZnO_2) in zahlreichen Modifikationen eine Rolle.

Metall/Metalloxid-Nanopartikel

Unter dem Begriff Metall/Metalloxid-Nanopartikel werden oftmals auch solche synthetischen Nanopartikel subsumiert, welche bereits seit längerem, und nicht erst mit Aufkommen des Begriffes Nanotechnologie, in der Diskussion stehen. Hier sind insbesondere SiO_2 - und TiO_2 -Nanopartikel zu nennen.

Die toxikologischen Effekte solcher Metalloxide in ihren unterschiedlichen Partikelgrößen wurden bereits außerhalb des Kontextes der Nanotechnologie relativ umfangreich untersucht. Diese sind daher auch in verschiedenen Übersichtsarbeiten beschrieben. Insbesondere im Rahmen der Arbeiten zu Dieselabgaspartikeln wurden Ergebnisse aus Studien zur Toxizität von Metalloxiden zusammengetragen. Unter diesen steht vor allem das als chemisch inert angesehene TiO_2 im Mittelpunkt der Betrachtung. In jüngster Zeit wurde auch verstärkt die Toxizität von nanoskaligen Metalloxid-Partikeln im Vergleich zu der von gröberen Partikeln gleicher chemischen Zusammensetzung untersucht (*Oberdörster et al. 2005a*).

Für nanoskalige TiO_2 -Partikel konnte in verschiedenen Studien an Ratten gezeigt werden, dass diese bei gleicher Massendosis toxischer wirken, d. h. mehr pulmonale Inflammationen verursachen, als feine TiO_2 -Partikel. Ferner wurde festgestellt, dass sich die pulmonale Toxizität nach Instillation oder Inhalation auf die Oberfläche der Partikel bezieht bzw. diese ein besseres Maß für die verursachten toxikologischen Effekte darstellt. Das chemisch inerte TiO_2 gilt seitdem als Muster für einen Stoff, welcher in Form von feinen Partikeln eine geringe Toxizität, in Form von nanoskaligen bzw. ultrafeinen Partikeln dagegen aber eine ausgeprägte Toxizität aufweist (*Borm und Kreyling 2004*).

Exemplarisch für eine Vielzahl von Studien seien hier die von *Höhr et al. (2002)* genannt. Diese untersuchten die akuten Entzündungsreaktionen und Zellschädigungen 16 Stunden nach intratrachealer Instillation in Ratten von oberflächenmodifizierten (hydrophil und hydrophob) feinen (180 nm) und ultrafeinen TiO_2 -Partikeln bei äquivalenter Massen- (1 u. 6 mg) und Oberflächendosis (100, 500, 600 u. 3000 cm^2). Die beobachteten Entzündungsreaktionen und die meisten Enzymlevel waren signifikant abhängig von der verabreichten Oberflächendosis. Die Autoren folgern, dass eher die Oberfläche als der hydrophobe Charakter die akuten, pulmonalen Entzündungsreaktionen durch feine und ultrafeine TiO_2 -Partikel bestimmen.

Nach Untersuchungen mit TiO_2 -Nanopartikeln liegen allerdings auch Ergebnisse dafür vor, wonach nicht alle Typen von nanoskaligen Partikeln toxischer sind als feine Partikel gleicher chemischer Zusammensetzung. So konnte in Studien mit pulmonaler Exposition von Ratten gegenüber nichtummantelten nanoskaligen TiO_2 -Stäben (200 nm Länge, 30 nm Durchmesser) und nanoskaligen TiO_2 -Punkten (Partikelgröße < 30 nm) gezeigt werden, dass durch diese im Vergleich zu feinen TiO_2 -Partikeln (Partikelgröße ca. 270 nm) keine vermehrten

Inflammationen in der Lunge verursacht werden (*Höhr et al. 2002, Rehn et al. 2003*). Auch wurde in einer Studie mit Quarz-Partikeln festgestellt, dass bei äquivalenter Massendosis Nanoquartz-Partikel (50 nm) weniger intensive und nachhaltige pulmonale Inflammationen und zytotoxische Reaktionen verursachen als feine Quarz-Partikel (Partikelgröße ca. 1600 nm) (*Wahrheit 2004 nach Borm et al. 2006*).

Diesen Ergebnissen steht aber eine Vielzahl von Befunden gegenüber (Übersichten hierzu siehe *Borm et al. 2006, Kappos et al. 2003, Oberdörster et al. 2005a*, usw.), wonach ultrafeine bzw. nanoskalige Metalloxid-Partikel wie insbesondere TiO₂ eine stärkere pulmonale Toxizität ausüben als feine Partikel gleicher chemischer Zusammensetzung.

Nachfolgend wird über Ergebnisse aus ausgewählten in vivo- und in vitro-Studien berichtet, in denen Metall/Metalloxid-Nanopartikel, welche zu den „engineered nanoparticles in the nanotechnology industry“ gezählt werden können, verabreicht wurden. Ob schlussendlich die einzelnen untersuchten Metall/Metalloxid-Nanopartikel eher den „engineered nanoparticles in the nanotechnology industry“ oder den „manufactured bulk nanoparticles in industry“ zuzuordnen sind, ist schwierig zu beantworten. Die Grenze zwischen beiden „Nanopartikel-Arten“ ist fließend. Eine Trennung ist hier nicht immer möglich, aber auch nicht unbedingt erforderlich.

In den nachfolgend aufgeführten Studien erfolgte eine Applizierung von Metall/Metalloxid-Nanopartikeln unterschiedlichster Modifikationen.

Hussain et al. (2005) prüften die akuten toxischen Effekte durch Metall/Metalloxid-Nanopartikel anhand von Rattenleberzelllinien (BRL 3A). Unterschiedlich große Nanopartikel wie Silber (15, 100 nm), Molybdän (30, 150 nm), Aluminium (30, 103 nm), Eisenoxid (Fe₂O₃; 30, 47 nm) und Titandioxid (40 nm) wurden hinsichtlich ihrer potenziellen Toxizität untersucht. Um die zelluläre Toxizität unter Berücksichtigung der verschiedenen Partikelgrößen und der unterschiedlichen Zusammensetzungen des Partikelkerns zu untersuchen, wurden in die Untersuchungen auch vergleichsweise große Partikel wie Cadmiumoxid (1 µm), Magnesiumoxid (1-2 µm) und Wolfram (27 µm) miteinbezogen. Es erwiesen sich Silbernanopartikel als hoch toxisch, MoO-Nanopartikel als moderat toxisch und Partikel aus Fe₃O₄, Al, MnO₂ und W als weniger oder nicht toxisch. Weiterhin reagierten Zellen mit Veränderung ihrer Größe, wenn sie hohen Dosen ausgesetzt wurden. So wiesen sie u. a. Zellschrumpfungen auf und nahmen eine unregelmäßige Form an. Die Autoren nehmen an, dass die Zytotoxizität von Silbernanopartikeln in Rattenleberzellen wahrscheinlich durch oxidativen Stress ausgelöst wird.

Die Ergebnisse der Untersuchungen von *Braydich-Stolle et al. (2005)* an spermatogonialen Stammzelllinien von Mäusen zeigten eine konzentrationsabhängige Toxizität für alle getesteten Typen von Nanopartikeln. Silbernanopartikel besaßen die höchste Toxizität, wohingegen Molybdäntrioxid sich als am wenigsten toxisch erwies. Nach Ansicht der Autoren lässt sich hieraus folgern, dass die von ihnen verwendeten Zelllinien ein geeignetes Modell darstellen, um die Zytotoxizität von Nanopartikeln in vitro zu ermitteln.

Hansen et al. (2006) untersuchten kanzerogene Effekte durch Nanopartikel aus Kobalt, Nickel, SiO₂, TiO₂ und PVC im Vergleich zu größeren Partikeln aus denselben Materialien in Ratten. Die verabreichten Nanopartikel verursachten, abhängig von den verschiedenen chemischen Eigenschaften, eine Reihe von biologischen Effekten, angefangen von Inflammationen bis hin zu malignen Tumoren. Die stärksten kanzerogenen Effekte wurden für Nickel, gefolgt von Kobalt beobachtet. Während für Nickel kein Unterschied in der Wirkung zwischen den Nanopartikeln und den größeren Partikeln festgestellt wurde, war dies für Kobalt nachweisbar. Hier traten die Effekte für Nanopartikel früher auf als die der größeren Partikel. Die drei anderen Materialien zeigten keine kanzerogenen Effekte. Die Autoren folgern aus ihren Ergebnissen, dass toxikologisch relevante Substanzen nicht allein durch die Um-

wandlung von größeren Partikeln in Nanopartikel zu Karzinogenen werden. Sie räumen aber ein, dass ihre Ergebnisse nicht auf den Menschen übertragen werden können und es bislang kein Tiermodell gibt, welches die neoplastischen Effekte von Nanopartikeln beim Menschen vorhersagen kann.

Untersuchungen von *Yu und Chow (2005)* mit Eisenoxid-beschichteten nanoskaligen Eisen/Eisencarbid-Nanokompositen ergaben, dass diese eine geringe Zytotoxizität aufweisen. Die Autoren attestieren den o. g. Nanopartikeln Biokompatibilität und eine mögliche zukünftige klinische Anwendung.

Gupta und Gupta (2005) untersuchten in vitro den Einfluss der zellulären Aufnahme von unbeschichteten und mit Pullulanase beschichteten supermagnetischen Eisenoxid-Partikeln auf die Zelladhäsion – u. viabilität, Zytotoxizität, Morphologie und auf den Aufbau des Zellgerüsts. Sie konnten an menschlichen dermalen Fibroblasten zeigen, dass unbeschichtete supermagnetische Eisenoxid-Nanopartikel (SPION) zelltoxisch wirken und ihre Aufnahme in die Zelle zu einer Zerrüttung des Zellgerüsts führt. Dagegen wurden für die mit Pullulanase beschichteten supermagnetischen Eisenoxid-Nanopartikel (pn-SPION) keine zytotoxischen Effekte beobachtet. Pn-SPION induzierten allerdings Veränderungen im Zellgerüst, die sich von denen durch SPION hervorgerufenen Störungen unterschieden. Die Autoren folgern aus ihren Untersuchungsergebnissen, dass die zelluläre Partikel Aufnahme abhängig von der Oberflächencharakteristik der Nanopartikel ist.

Wang et al. (2007) untersuchten an Mäusen die akute Toxizität von 20- und 120 nm ZnO-Pulver nach oraler Applikation. Hierzu wurden verschiedene Dosen (1-, 2-, 3-, 4-, 5-g/kg Körpergewicht) auf der Grundlage der OECD-Richtlinien für das Testen von Chemikalien verabreicht. Bei der nachfolgenden Bestimmung des Distributionsverhaltens von 20- und 120 nm ZnO zeigte sich, dass das verabreichte Zn hauptsächlich in Knochen, Niere und Schilddrüse verblieb. Der beobachtete Anstieg der Blutviskosität könnte dagegen zum einen durch geringe und mittlere Dosen des 20 nm-ZnO sowie durch hohe Dosen des 120 nm-ZnO verursacht worden sein. Die mit 120 nm-ZnO exponierten Mäuse (acht Wochen alt, 20 bis 22 g) zeigten dosisabhängige pathologische Beeinträchtigungen für den Magen, Leber, Herz und Milz. 20 nm-ZnO verursachten adverse dosisabhängige Beeinträchtigungen in Leber, Milz und Schilddrüse. Die Autoren folgern aus ihren Ergebnissen, dass Leber, Milz, Herz, Schilddrüse und Knochen die Zielorgane für 20 nm- und 120 nm-ZnO-Partikel nach oraler Applikation sind. Nach ihrer Auffassung sollte zukünftig der potentiellen Toxizität, welche durch geringe Dosen von 20 nm-ZnO hervorgerufen werden kann, größere Aufmerksamkeit geschenkt werden (*Wang et al. 2007*).

Insgesamt ist festzuhalten, dass die Toxizität von Metall/Metalloxid-Nanopartikeln sehr komplex ist. Für diese sind toxische Effekte allerdings schon deshalb zu erwarten, da Metalle und ihre Verbindungen aufgrund ihrer chemischen Eigenschaft an sich toxisch wirken. Diese Toxizität von Metallen und ihren Verbindungen ist gut beschrieben. Vielmehr ist aber die Frage zu beantworten, ob sich Metalloxide in ihrer Eigenschaft als nanoskalige Partikel bezüglich der Toxizität anders verhalten als deren aufgelöste ionische Formen oder organische Komponenten.

Allgemein können nanoskalige Metalloxide störend auf Membrane, Proteine und andere Zellstrukturen einwirken. Verschiedene Studien haben gezeigt, dass inkorporierte Metalloxid-Nanopartikel zu entsprechenden inflammatorischen Reaktionen führen können. Dies umfasst die Freisetzung von proinflammatorischen Zytokinen. Auch können fibrogene Faktoren nach Behandlung mit feinen und ultrafeinen Metalloxid-Nanopartikeln freigesetzt werden. Neuesten Erkenntnissen zufolge können zudem sogenannte "Toll-like-Rezeptoren (TLR)" in dieses nanospezifische Geschehen involviert sein, wie Ergebnisse nach Verabreichung verschiedener Nanopartikel wie TiO₂, ZrO₂ und SiO₂ an Humanmakrophagenzellen zeigten (*Krug et al. 2006c*). Des Weiteren ließ sich in inhalativen Experimenten eine Änderung des zytologischen

Profils in Mäusen, Ratten und Hamstern beobachten. In verschiedenen Studien wurde darüber hinaus an Zellkulturen eine akute Toxizität von nanoskaligen Metalloxiden gezeigt.

Aus verschiedenen Untersuchungen, welche in der Vergangenheit in erster Linie in Übersichtsarbeiten zu den adversen Effekten durch ultrafeine Partikel und Dieselrußpartikel zitiert wurden, ist bekannt, dass Metalloxid-Nanopartikel, wie insbesondere TiO₂, Lungentumore in Ratten verursachen. Laut *Krug et al. (2006c)* kann vermutet werden, dass nanoskalige Metalloxide DNA-Schädigungen verursachen können, wodurch ein Risiko für Tumorentwicklungen gegeben ist. Bislang liegen keine ausreichenden Erkenntnisse vor, um die genotoxischen Effekte von nanoskaligen Metalloxiden abschließend beurteilen zu können. Dazu muss das Wissen sowohl zu den direkten DNA-schädigenden Effekten als auch zu den indirekten genotoxischen Mechanismen via oxidativem Stress zu verbessert werden.

Zusammenfassend lässt sich festhalten:

Es kann davon ausgegangen werden, dass bei gleicher chemischer Zusammensetzung Metall/Metalloxid-Partikel im Nanoformat toxischer wirken als feine Metall/Metalloxid-Partikel.

Für die Metall/Metalloxid-Nanopartikel im Sinne von „*engineered nanoparticles in the nanotechnology industry*“ gilt es zu klären, inwieweit die unterschiedlichen physiko-chemischen Modifikationen dieser neuartigen synthetischen Nanopartikel (z. B. Beschichtung) zu einer andersartigen Toxizität führen.

Eine ausführliche Beschreibung des derzeitigen Kenntnisstandes bezüglich der Biotoxizität von Metalloxid-Nanopartikeln auf der Basis von in vitro-Studien wurde von *Fond und Meyer (2006)* erstellt. Für detaillierte Informationen wird auf diese Übersichtsarbeit verwiesen.

Weitere Nanomaterialien (Dendrimere u. a. m.)

Im Folgenden werden ferner kurz Ergebnisse aus einzelnen Studien mit weiteren neuartigen synthetischen Nanopartikeln aufgeführt, die nicht zu den Metallen/Metalloxiden zu zählen sind. Auch für diese Nanopartikel reicht die derzeitige Datenlage insgesamt nicht aus, um die Frage zu beantworten, ob und inwieweit die unterschiedlichen Modifikationen mit ihren neuen Eigenschaften zu vermehrten zytotoxischen und pulmonalen Effekten führen können.

In vielen pharmakologischen in vitro-Studien wurde die Zytotoxizität von Dendrimeren untersucht. Hierbei wurden allerdings verschiedene Zelllinien, Inkubationszeiten (Stunden bis Tage) und Untersuchungsmethoden verwendet, so dass die Ergebnisse nicht oder nur eingeschränkt miteinander vergleichbar sind. Nichtsdestotrotz lassen sich einige generelle Trends ableiten. So zeigen Dendrimere mit –NH₂-Termini eine konzentrationsabhängige Zytotoxizität. Die Zytotoxizität von Dendrimeren ist zwar auch abhängig von der Chemie des Kerns, aber stärker wird diese von der Beschaffenheit der Oberfläche beeinflusst. Zum Beispiel sind kationische Dendrimere weitaus toxischer als anionische oder Polyethylenglykol (PEG)-Dendrimere. Auch zeigten quarternisierte PANAM-OH-Derivate aufgrund der Abschirmung der inneren kationischen Ladung durch Hydroxyl-Gruppen an der Oberfläche (*Duncan und Izzo 2005*) eine geringere Zytotoxizität als PANAM-NH₂.

Kuo et al. (2005) konnten in ihrer pharmakologischen in vitro-Studie an murinen Makrophagen-Zellen für kationische Dendrimere (Polyamidoamin (PANAM) und Polypropylenimin (DAB)) eine dosis-abhängige Zytotoxizität zeigen. Zudem ließen sich morphologische Besonderheiten der Apoptose beobachten. Bei Exposition gegenüber den kationischen Dendrimeren wiesen ferner Veränderungen einiger Parameter auf DNA-Spaltungen hin.

In vivo-Untersuchungen zur Toxizität von Dendrimeren liegen nur in sehr geringer Anzahl vor. Bei diesen wurden die Dendrimere in verschiedener Form appliziert (intravenös, intraperitoneal). Allgemeine Schlussfolgerungen können aus diesen Studien bislang nicht gezogen

werden. Es lässt sich allerdings festhalten, dass PANAM-Dendrimere mit einer Carboxylat-Oberfläche weniger toxisch sind als kationische Derivate (*Duncan und Izzo 2005*).

Lesniak et al. (2005) untersuchten in vitro die Zelltoxizität von Dendrimeren und verwandten Silbernanokompositen. Demnach sind der Zelleinschluss und die Zelltoxizität dieser neuartigen synthetischen Nanopartikel abhängig von ihrer Oberflächenfunktionalität. Es zeigten sich nur für wenige der untersuchten Nanopartikel zelltoxische Effekte und dies auch nur bei hohen Konzentrationen. Nach Auffassung der Autoren legen die Ergebnisse nahe, dass die untersuchten Nanopartikel biokompatibel sind und einer möglichen Anwendung in biologischen Systemen nichts im Wege steht.

Nigavekar et al. (2004) untersuchten unterschiedlich geladene Polyamidoamin(PANAM)-Dendrimere auf ihre akute Toxizität. Hierzu wurden diese intravenös an Mäusen verabreicht. Eine akute Toxizität ließ sich nicht feststellen.

Biologisch abbaubare Polymer-Nanopartikel, welche hergestellt werden, um als Medikamenten-Carrier zu fungieren, erzeugten nach intratrachealer Verabreichung bei der Maus geringere inflammatorische Reaktionen als nicht biologisch abbaubare Polystyrol-Nanopartikel vergleichbarer Größe (*Dailey et al. 2006*).

Die proinflammatorischen Reaktionen von Polystyrol-Nanopartikeln (\varnothing 64 nm) wurden bereits von *Brown et al. (2001)* untersucht. Nach Instillation dieser Partikel in die Lunge von Ratten zeigte sich für diese ein signifikant erhöhter Einstrom von polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten (PMN) in die Lunge im Vergleich zu größeren Polystyrol-Partikeln (202 und 535 nm). Dies traf auch für die Erhöhung weiterer Entzündungsparameter wie dem intrazellulären Enzym Laktatdehydrogenase (LDH) zu. Die Autoren folgern, dass partikelinduzierte Inflammationen durch die Oberfläche der Partikel gesteuert werden und ultrafeine Partikel aufgrund ihrer größeren Oberfläche verglichen mit feinen Partikel vermehrt Entzündungen auszulösen vermögen.

Die Applikation von Polycaprolacton-Nanopartikeln mit inkorporiertem Digitoxin, einem herzwirksamen Therapeutikum, auf Mesangiumzellen der Nierenglomeruli (Nierenkörperchen) von Ratten verursachte keine toxischen Effekte. Es zeigten sich weder morphologische Veränderungen der Zellen noch zytotoxische Effekte oder Erhöhungen von Entzündungsparametern (*Guzman et al. 2000*).

Des Weiteren sei erwähnt, dass Nanopartikel aus Polysulfid in einem Fibroblasten-Modell eine vernachlässigbare Zytotoxizität zeigten (*Rehor et al. 2004*).

In einer Untersuchung von *Wu et al. (2004)* ließen sich bei einer Kurzzeitexposition (7 h) von Rattenleberzellen gegenüber Nanopartikeln aus Hydroxylapatit unterschiedlicher Konzentrationen im Vergleich zur Kontrolle keine schädigenden Effekte beobachten. Allerdings konnten antioxidative Enzymaktivitäten festgestellt werden.

Schrand et al. (2006) untersuchten die Zytotoxizität von Nanodiamanten (2 bis 10 nm). Aufgrund ihrer geringen chemischen Reaktivität und einzigartigen physikalischen Eigenschaften ergibt sich für Nanodiamanten eine ganze Reihe von biologischen Anwendungsmöglichkeiten. Als Beispiele können hier die Carrierfunktion für Arzneimittel, Gene oder Proteine, das Coating für implantierbare Materialien und die Verwendung als Biosensoren genannt werden. Daher ist es essentiell, die möglichen Gefährdungen durch Nanodiamanten für den Menschen und andere biologische Systeme festzustellen. Anhand einer Prüfung der Zellviabilität in Form der mitochondrialen Funktion und der Adenosintriphosphat-Produktion konnte gezeigt werden, dass Nanodiamanten nicht toxisch auf die verschiedenen untersuchten Zelltypen wirken. Des Weiteren produzierten Nanodiamanten keine reaktiven Sauerstoffspezies im bedeutsamen Ausmaß. Zudem konnte dargelegt werden, dass Zellen auf mit Nanodia-

manten ummantelten Substraten ohne morphologische Veränderungen wachsen. Nach Meinung der Autoren können Nanodiamanten daher insgesamt als ideal für verschiedenste biologische Anwendungen an unterschiedlichsten Zelltypen angesehen werden (*Schrand et al. 2006*).

In einer pharmakologischen in vitro-Studie wurde von *Memisoglu-Bilensoy et al. (2006)* eine konzentrationsabhängige Zytotoxizität für Cyclodextrin-Nanopartikel an menschlichen polymorphonuclearen Zellen und vor allem an Fibroblasten der Maus festgestellt. Außerdem ermittelten sie, wie auch andere Untersucher für andere Nanopartikel, einen Zusammenhang zwischen der Anwesenheit bzw. der Konzentration von oberflächenaktiven Stoffen der Nanopartikel und der Zytotoxizität.

4.5 Wirkungsmechanismen

Als bedeutsame Eigenschaft von neuartigen synthetischen Nanopartikeln hinsichtlich adverbser toxikologischer Effekte kann vor allem die geringe Größe und die sich hieraus ergebende sehr große Oberfläche angesehen werden. Studien an Versuchstieren und mit Zellkulturen weisen für neuartige synthetische Nanopartikel auf einen solchen Zusammenhang zwischen Partikelgröße und Toxizität hin (*Krug 2005b*).

Aber auch andere Parameter wie die chemische Zusammensetzung, Dichte, Persistenz, Oberflächenstruktur und die Reaktivität der Substanzen sind als wichtige Effektmodifizierer anzusehen (*Salomon 2006*). Unterschiedliche Partikeleigenschaften sollten zu unterschiedlichen Effekten mit unterschiedlichen Effektkonzentrationen führen (*Helland 2004*).

So dürfte beispielsweise die Toxizität von Quantenpunkten von einer Reihe von Faktoren abhängen, welche sich aus den physikochemischen Eigenschaften und den Umweltbedingungen ergeben. Die Größe, Konzentration, Beladung, chemische Zusammensetzung des Kerns und des Beschichtungsmaterials sowie dessen Bioaktivität und deren oxidative, photolytische und mechanische Stabilität können die Toxizität als Einzelfaktoren sowie gesamtheitlich bestimmen (*Hardman 2006*).

Zu den Wirkungsmechanismen von Nanomaterialien können die Erkenntnisse aus bereits vorliegenden Studien zu ultrafeinen Partikeln herangezogen werden (*Krug 2005a*). Neuartige synthetische Nanopartikel und ultrafeine Partikel haben u. a. die gemeinsame Eigenschaft, die Alveolen der Lunge zu erreichen und in das Interstitium (Zwischengewebe) verlagert zu werden. Des Weiteren haben sie eine große Oberfläche mit einer hohen chemischen Reaktionsfähigkeit. Sie besitzen somit ein hohes Potential zur Verursachung von Entzündungen, woraus sich interstitielle Lungenveränderungen und Fibrosen ergeben können (*Brüske-Hohlfeld 2005*).

Die bevorzugte Wirkungshypothese aus der Partikelforschung bzgl. ultrafeiner Partikel besagt, dass durch oxidativen Stress verursachte Inflammationen, häufig verbunden mit gentoxischen Effekten für die beobachteten adversen Effekte verantwortlich sind (*Krug 2005a*). Für schwerlösliche Partikel aus nicht bzw. gering toxischen Materialien wurde eine lineare Beziehung zwischen der Oberfläche und dem Vermögen Inflammationen zu verursachen gefunden (*Helland 2004*).

Ob dieser für UFP favorisierte Wirkungsmechanismus aber vollständig auf neuartige synthetische Nanopartikel mit ihren neuartigen Eigenschaften übertragen werden kann, ist bislang unklar. Für Fullerene (C₆₀), Nanoröhren und Quantenpunkte wurde in wenigen in vivo- und in vitro-Studien eine entsprechende Generierung von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS), insbesondere bei gleichzeitiger Exposition gegenüber Licht, UV-Strahlung und Übergangsme-

tallen, festgestellt. Die Bildung von ROS in Zellen und Geweben durch Partikel wird auch von den Autoren als Verursacher von oxidativem Stress, welcher zu Entzündungsreaktionen und im weiteren zu toxischen Effekten führen kann, angesehen. Es ist daher davon auszugehen, dass die für UFP bekannten Mechanismen nach inhalativer Aufnahme, die die Größe der Partikel zu Grunde legen, auch für neuartige synthetische Nanopartikel bedeutsam sind (*Krug 2005a*).

Die exakten Vorgänge bei der Bildung von ROS durch neuartige synthetische Nanopartikel sind bislang nicht geklärt. Diskutiert werden im Einzelnen die folgenden:

- a) durch photolytische Stimulierung von Fullerenen und SWCNT verursachter intersystemischer Durchtritt mit Bildung freier Elektronen
- b) Metabolisierung von synthetischen Nanopartikeln mit Bildung von redoxaktiven Zwischenprodukten, insbesondere wenn die Metabolisierung über Zytochrom P450 erfolgt
- c) Entzündungsreaktionen in vivo, welche die Freisetzung von ROS durch Makrophagen verursachen (*Oberdörster et al. 2005a*).

Da aber neu synthetisierte Nanomaterialien völlig neue Eigenschaften im Hinblick auf chemische, physikalische und elektronische Anwendungen besitzen, können mithin gänzlich neue Auswirkungen für den Menschen erwartet werden (*Krug 2005a*). Die neuartigen Eigenschaften der synthetischen Nanopartikel lassen daher eine völlig andersartige Ausprägung der Toxizität erwarten. Aus diesem Grund sind auch andersartige Wirkungsmechanismen zu erwarten. Es ist demzufolge wichtig herauszufinden, ob und worin der Unterschied zwischen der Toxizität von ultrafeinen Partikeln und synthetischen neuartigen Nanopartikeln besteht (*Helland 2004*). Eine bloße Extrapolation von Daten zu Wirkungsmechanismen aus dem Bereich der ultrafeinen Partikel auf neuartige synthetische Nanopartikel ist demnach kritisch zu betrachten. D. h., eine aussagekräftige Vorhersage für die Toxizität von neuartigen synthetischen Nanopartikeln kann allein auf der Basis des bisherigen Wissens nicht erreicht werden. Die Situation ist auch zusätzlich durch die große Zahl verschiedener Substanzen und die große Zahl unterschiedlicher Strukturen, Oberflächen und Größen von neuartigen synthetischen Nanopartikeln nicht einschätzbar.

So sind z. B. Fullerene und CNT jeweils als Stoffklassen aus verschiedenen Komponenten zu betrachten, bei denen jeder einzelne Fulleren- und Nanoröhren-Typ, abhängig von seiner Funktionalisierung, Synthese und Reinigungsmethode sehr unterschiedliche Eigenschaften aufweist. Dies ist von großer Tragweite hinsichtlich der Abschätzung des Umweltverhaltens einschließlich der Toxikologie jeder einzelnen Komponente.

Es ist darüber hinaus zu beachten, dass viele künstlich hergestellte Nanopartikel funktionalisiert sind und dies ihr Verhalten signifikant beeinflusst. Änderungen in der Funktionalisierung durch Umweltfaktoren oder des Ummantelns der Oberfläche durch natürliche Komponenten sind wichtige Prozesse, welche jedoch bislang nur ansatzweise erforscht wurden. Diesbezüglich ist es wichtig zu wissen, dass die meisten Nanopartikel in technischen Anwendungen in funktionalisierter Form vorliegen. Studien mit unbehandelten Nanopartikeln stellen keine Grundlage dar, um das Verhalten von Nanopartikeln in der Umwelt und in Organismen relevant abzuschätzen.

Und nicht zuletzt wäre zu beachten, dass die Interaktion von Nanopartikeln mit anderen toxischen, organischen Komponenten einen Einfluss auf die Toxizität haben kann, d. h., diese sowohl verstärken als auch abschwächen kann (*Nowack und Bucheli 2007*).

Ob die für faserförmige Materialien wie z. B. Asbest vorliegenden Erkenntnisse zu toxikologischen Effekten und die diesen zugrunde liegenden Wirkungsmechanismen, wie von manchen Untersuchern vorgeschlagen, auf Nanoröhren übertragen werden können, ist unklar (*Tran et al. 2005*). Nanoröhren können aufgrund ihrer Gestalt als faserförmige Partikel ange-

sehen werden. So weisen Nanoröhren ein L/D-Verhältnis von ≥ 100 mit einer Länge von bis zu 5 μm und einem Durchmesser von 0,7 bis 1,5 nm (SWCNT) bzw. 2 bis 50 nm (MWCNT) auf (*Oberdörster et al. 2005a*). Bezüglich der kanzerogenen Wirkung haben kritische Asbestfasern ein L/D-Verhältnis von >3 mit Längen $> 5\mu\text{m}$ und Durchmessern $< 3\text{nm}$. Daher wird kontrovers diskutiert, ob die für faserförmige Stoffe wie Asbest bekannten Effekte und Wirkungsmechanismen auch für Nanoröhren gelten könnten. Wenn hinsichtlich der toxischen Effekte das Paradigma für Mineralfasern zuträfe, sollten lange Nanoröhren schädlichere und kürzere Nanoröhren weniger schädliche Wirkungen hervorrufen. Auch würden biolösliche Nanoröhren weniger schädlich sein als nicht biolösliche Nanoröhren (*Tran et al. 2005*).

Zwei Studien von *Murr et al. (2005, 2006)* lieferten für CNT-Proben ähnliche Toxizitätsergebnisse wie für Asbest (Chrysotil). Nach *Wick et al. (2006)* sind CNT-Agglomerate von der Größe, der Steifigkeit und der Festigkeit dem Asbest (Krocidolith) ähnlich. Eine andere Studie von *Soto et al. (2005)* zeigte für SWCNT und MWCNT eine Zytotoxizität, die mit der von Chrysotil-Asbest-Aggregaten vergleichbar ist.

Allerdings liegen auch Studien vor, die eine Asbest-Analogie zumindest teilweise widerlegen (*Hoet et al. 2004, Huczko et al. 2001*). Daher ist trotz der sich aufgrund der Form und Lungengängigkeit dieser Materialien prinzipiell anbietenden Analogiebetrachtung von Asbest zu Nanoröhren Vorsicht geboten. Nach *Helland (2004)* ergibt sich das Vermögen von SWCNT, Lungenschädigungen zu verursachen, vor allem aus deren neuen einzigartigen physikochemischen Eigenschaften.

Eine Dosis- bzw. Konzentrations-Wirkungsbeziehung lässt sich für keine Art der bisher untersuchten neuartigen synthetischen Nanopartikel nach den wenigen bislang vorliegenden Ergebnissen angeben. Dies entspricht auch der Auffassung von *Hardman (2006)*, wobei dieser seine Aussage auf Quantenpunkte bezieht. Die für Quantenpunkte geltende Aussage kann aber sinngemäß auch auf neuartige synthetische Nanopartikel insgesamt bezogen werden. Eine Dosis- bzw. Konzentrations-Wirkungsbeziehung kann auch deshalb nicht aufgestellt werden, weil ein Vergleich der Studienergebnisse untereinander nur sehr begrenzt möglich ist. Die in den wenigen in vitro- und in vivo-Untersuchungen verabreichten Dosierungen bzw. Expositionskonzentrationen wurden in unterschiedlichen Maßeinheiten ($\mu\text{g}/\text{mg}$, Molarität, mg/kg KG) angegeben. Auch ein Wirkungsschwellenwert, sofern ein solcher überhaupt vorhanden ist, lässt sich bei der derzeitigen Datenlage erwartungsgemäß für keine Art von NSNP angeben.

Zur zukünftigen Erarbeitung von Dosis- bzw. Konzentrations-Wirkungsbeziehungen ist es dringend erforderlich, die Versuchmodelle besser abzustimmen und ggf. zu standardisieren. Dies betrifft beispielsweise die verabreichten Dosen bei in vivo- und in vitro-Versuchen oder die zu untersuchenden Wirkungsendpunkte bzw. Zielorgane (*Oberdörster et al. 2005a*).

4.6 Fazit zu den vorliegenden toxikologischen Untersuchungen

Es liegen bislang erst wenige toxikologische Untersuchungen für die bereits vielen verschiedenen neuartigen synthetischen Nanopartikel (NSNP) vor. Die Datenlage zu den meisten NSNP ist spärlich und die Ergebnisse der durchgeführten Studien sind nicht einheitlich. In verschiedenen Studien zeigten sich toxische Effekte, in anderen wurden keine adversen Effekte gefunden.

Die Daten lassen sich nicht bzw. nur sehr eingeschränkt miteinander vergleichen, da die Untersuchungen meist mit unterschiedlichen Materialien durchgeführt wurden (*Krug 2006a*). Zudem erfolgte in den verschiedenen Studien die Angabe der applizierten Dosen in unterschiedlichen Metriken ($\mu\text{g}/\text{mL}$, μM usw.), so dass auch hierdurch eine Vergleichbarkeit der erzielten Ergebnisse nicht möglich ist.

Im Deutschen Institut für Normung in Berlin werden daher z. Zt. auch entsprechende Überlegungen angestellt, wie Materialien und Testverfahren standardisiert und normiert werden können, damit zukünftige Daten vergleichbar werden. Des Weiteren sollen auch Richtlinien zur Herstellung von Referenzmaterial geschaffen werden.

Aufgrund dieser wenigen Studien über synthetische Nanopartikel und auch durch den Vergleich mit Studien zu Stäuben aus Verbrennungsprozessen zeigte sich zudem, dass klassische toxikologische Tests nur begrenzt geeignet sind, um die Wirkung von synthetischen Nanopartikeln abzubilden (*Salomon 2006*).

Insgesamt ist die toxikologische Datenlage zu neuartigen synthetischen Nanopartikeln bislang nicht ausreichend, um die gesundheitlichen Wirkungen fundiert einzuschätzen. Welche Wirkungsmechanismen den adversen Effekten zugrunde liegen, ist unklar. Die für ultrafeine Partikel als relevant erachteten Wirkungsmechanismen dürften zumindest in einem gewissen Rahmen auch für neuartige synthetische Nanopartikel bedeutsam sein. Allerdings lassen die neuartigen physikochemischen Eigenschaften der synthetischen Nanopartikel eine andere ggf. auch neuartige Toxizität und somit auch andersartige Wirkungsmechanismen erwarten. Darüber hinaus könnten reine Nanomaterialien, auch wenn diese selbst keinen negativen Effekt auf lebende Systeme hätten, durchaus in der Lage sein, andere chemische Kontaminanten an ihre Oberfläche zu binden, so den Transport in der Luft ermöglichen und damit zu einer erhöhten Belastung des Menschen aus der Umwelt führen (*Krug 2005a*).

4.7 Forschungs- und Handlungsbedarf

Bezüglich der möglichen gesundheitlichen Wirkungen durch neuartige synthetische Nanopartikel herrscht großer Forschungsbedarf. Nach *Donaldson et al. (2004)* betrifft dies insbesondere die Interaktionen mit Zellen und Geweben nach der inhalativen Aufnahme bis hin zu den Effekten in den verschiedenen Zielorganen. Die Autoren fordern deshalb die Etablierung eines eigenständigen Forschungsbereiches "Nanotoxikologie". Dieser sollte ihrer Auffassung nach u. a. die Entwicklung von Testprotokollen für alle Materialien im Nanobereich, die Evaluierung des Einflusses der Größe und Oberfläche von synthetischen Nanopartikeln auf die Deposition, Translokation und Toxizität umfassen. Auch die Schaffung von Netzwerken zur Bereitstellung und Diskussion von ermittelten Daten wäre nach *Donaldson et al. (2004)* überaus sinnvoll.

Nach *Borm und Kreyling (2004)* besteht derzeit eine große Lücke hinsichtlich des Informationsflusses zwischen den Erkenntnissen aus toxikologischen und pharmakologischen Stu-

dien, in denen die Materialien zum Zwecke der medizinischen Anwendung untersucht werden. Aus beiden Disziplinen stehen, wenn auch mit unterschiedlichen Zielrichtungen, Erkenntnisse zu denselben Aspekten, wie insbesondere der Interaktion von Nanopartikeln mit Zellen, im Mittelpunkt. Daher ist nach *Borm und Kreyling (2004)* zukünftig eine enge Verzahnung dieser Forschungen wünschenswert.

Nach *Donaldson et al. (2004)*, *HMG (2005)*, *Oberdörster et al. (2005a)*, *Oberdörster et al. (2005b)*, *Tran et al. (2005)* lassen sich die folgenden detaillierten Forschungsziele angeben:

- Entwicklung von standardisierten, charakterisierten Referenzpartikeln für toxikologische Versuchszwecke
- Identifizierung der bedeutsamen Partikeleigenschaften und deren Messmethoden
- Konkrete Effekte auf Zell- und Gewebetypen in der Lunge wie Epithelium, Makrophagen, Immunzellen, Endothelium, Fibroblasten
- Effekte auf den Respirationstrakt
- Effekte auf das kardiovaskuläre System
- Effekte auf das Knochenmark, Gehirn, Milz, Leber, Herz und Plazenta/Fötus
- Effekte auf die Funktion und immunologische Homöostase des Darms nach inhalativer Aufnahme
- Kurzzeit- und Langzeiteffekte nach inhalativer Aufnahme in der Lunge und anderen Zielorganen
- Rolle der verschiedenen physikochemischen Eigenschaften (Größe, Form, Zusammensetzung, Beschichtung, Metalle, Aggregierungszustand usw.) hinsichtlich Toxizität sowie Entwicklung von entsprechenden in vitro-Tests
- Aggregation der erhobenen toxikologischen Daten zu einem Paradigma mit dem Ziel, vorherzusagen, welche physikochemischen Strukturen welche Reaktionen bedingen
- Durchführung von Tier- und in vitro-Studien mit direkter Instillation in den unteren Respirationstrakt sowie Verabreichung von Partikeln in einem weiten Dosisbereich inklusive zu erwartender realistischer Exposition
- Erarbeitung und Erstellen von Dosis-Wirkungsbeziehungen
- Bedeutung der Eigenschaften Breite, Länge, Zusammensetzung von Nanoröhren auf deren Toxikologie (in vivo und in vitro) / Analogie zu faserförmigen Stoffen
- Übertragbarkeit der Erkenntnisse zur Toxizität von faserförmigen Partikeln auf Nanoröhren
- Wirkungsmechanismen inklusive der Induktion von Inflammationen, Fibrosen und gentoxischen Effekten in der Lunge
- Rolle des oxidativen Stresses als Verursacher der Inflammation und Gentoxizität
- Inter- und intrazellulärer Transport und Lokalisation von synthetischen Nanopartikeln
- Wirkungsmechanismen in anderen Zielorganen als der Lunge
- Übertragbarkeit der für ultrafeine Partikel vorliegenden Erkenntnisse zu gesundheitlichen Effekten und Wirkungsmechanismen (oxidativer Stress, inflammatorische Effekte und Gentoxizität) und wirkungsrelevanter Partikeleigenschaften (Größe, Dichte, Oberfläche, chemische Zusammensetzung usw.)
- Entwicklung eines geeigneten Studiendesigns für humanmedizinisch epidemiologische Wirkungsuntersuchungen.

5. Risikoabschätzung und gesetzliche Regelungen

5.1 Risikoabschätzung

Eine Abschätzung der möglichen gesundheitlichen Risiken für den Menschen nach inhalativer Exposition gegenüber neuartigen synthetischen Nanopartikeln (NSNP) ist bisher nicht möglich (*Krug 2005a, Oberdörster et al. 2005a, BMU 2005, Salomon 2006*). Nach einhelliger wissenschaftlicher Meinung reicht die gegenwärtige Datenlage für eine fundierte Abschätzung bei weitem nicht aus. Es fehlen vor allem konkrete Erkenntnisse zur Freisetzung, zum Verhalten in der Umwelt, zum Vorhandensein und Ausmaß der Exposition, zur Aufnahme in den Organismus und zur Wirkung auf den Menschen (*Salomon 2006*). Auch wird hinsichtlich einer erforderlichen Risikoabschätzung immer wieder betont, dass festgestellte toxische Effekte nicht zwangsläufig ein Risiko darstellen. Eine Risikoabschätzung muss die Wahrscheinlichkeit des Eintreffens einer Gefährdung berücksichtigen. Dieses bedarf einer realistischen Abbildung der inhalativen Exposition.

Nach *Nel et al. (2006)* können synthetische Nanomaterialien toxische Effekte verursachen. Schlüssige Daten oder Szenarien, die anzeigen, ob diese Effekte ein bedeutsames Risiko darstellen werden, fehlen jedoch bislang. Es sollten nach Auffassung von *Nel et al. (2006)* allerdings entsprechende Initiativen gestartet werden, um die für Nanomaterialien erforderliche Risikoabschätzung angehen zu können.

Gesicherte Erkenntnisse, ob synthetisch hergestellte Nanopartikel eine Gefahr für Arbeitskräfte und Verbraucher darstellen, liegen zurzeit noch nicht vor (*BMU 2005*). Vor allem gibt es keine Erkenntnisse darüber, ob die Bevölkerung einer erhöhten Belastung nach inhalativer Exposition unterliegt.

Nach *Colvin (2003)* sei es beim gegenwärtigen Erkenntnisstand ein Fehler zu sagen, neuartige synthetische Nanopartikel sind sicher. Ebenso sei es ein Fehler zu behaupten, diese sind (besonders) gefährlich. Auch die Gefährlichkeit für die einzelnen Typen dürfte sich sehr unterscheiden.

Es bleibt daher offen, ob alle Nanomaterialien auch gleichzeitig Nanonoxen sind (*Kern et al. 2004*). Nach *Hoet et al. (2006)* besteht für die Nanotechnologie die konkrete Aufgabe und Herausforderung darin, die Nanomaterialien aus der Vielzahl der neuartigen Materialien mit spezifischen Eigenschaften (Größe, Zusammensetzung, Beschichtung) ausfindig zu machen, welche nachteilige Gesundheitseffekte verursachen können. Die Quantifizierung des Risikos für jedes einzelne dieser Nanomaterialien mit unterschiedlichen Eigenschaften wie Partikelgrößenverteilung, Gehalten an Verunreinigungen und Oberflächenfunktionalitäten, die allesamt die Toxizität bestimmen, ist allerdings schwierig und kostenintensiv. Die Vielfalt der Nanomaterialien fordert uns somit heraus zu überlegen, wie wir diese hinsichtlich der Risikoabschätzung priorisieren (*Owen und Handy 2007*).

Um die möglichen gesundheitlichen Risiken von neuartigen synthetischen Nanopartikeln abschätzen zu können, ist insgesamt zukünftig eine umfassende Untersuchung des gesamten Lebenszyklus der neuen Materialien, d. h. der Transportwege in der Umwelt, der Expositionspfade der lebenden Organismen, der toxischen Effekte sowie der Bioverfügbarkeit und Bioakkumulation, notwendig (*Krug 2005a*). Erst auf dieser Grundlage ist eine Risikoabschätzung möglich und können entsprechende Maßnahmen eingeleitet werden (*Krug 2005a*). Für eine belastbare Abschätzung der möglichen Risiken von neuartigen synthetischen Nanopartikeln müssen zudem erst noch verschiedene Bedingungen erfüllt werden. Zunächst einmal müssen Methoden zur Risikoabschätzung entwickelt und deren Eignung getestet werden (*HMG 2005*).

Von verschiedenen Seiten wird befürchtet, dass diesbezüglich erforderliche Aktivitäten unterbleiben könnten, weil eben bislang eine definierte Zielsetzung fehlt, da aufgrund der mangelhaften Datenlage bislang kein konkreter zukünftiger Regulierungsbedarf aufgezeigt werden konnte (*Helland 2004*). Von verschiedenen Autoren wurden allerdings bereits Methoden bzw. Modelle aufgezeigt, mit denen eine Risikoabschätzung für Nanomaterialien durchgeführt werden kann.

Nach *Davis (2007)* von der U.S.-amerikanischen Umweltschutzbehörde könne bei der Risikoabschätzung für die Nanotechnologie nach dem Modell der umfassenden Umweltfolgenabschätzung („*Comprehensive Environmental Assessment (CEA)*“) vorgegangen werden. Da derzeit noch zu wenige Informationen vorliegen, sei bislang aber noch keine quantitative Abschätzung möglich. Die CEA könne allerdings bereits jetzt als Basis für die Entwicklung einer stimmigen Forschungsstrategie dienen, welche diejenigen Informationen liefert, die für eine Abschätzung der potenziellen Risiken erforderlich sind.

Nach *Linkov et al. (2007)* sollte zur Risikoabschätzung und zum Risikomanagement für Nanomaterialien die Multi-Kriterien-Entscheidungs-Analyse (Multi-Criteria Decision Analysis - MCDA) verwendet werden. In ihrer Veröffentlichung zeigen die Autoren anhand der MCDA beispielhaft auf, wie zwischen dem sozialen Nutzen und den unerwünschten Nebeneffekten und Risiken abgewogen werden kann. An einem Beispiel wird gezeigt, wie in der MCDA die vorliegenden Informationen mit Entscheidungskriterien und Gewichtungsfaktoren verknüpft werden und somit für Transparenz und eine Quantifizierung im Entscheidungsfindungsprozess gesorgt wird.

Neben validen Methoden zur Risikoabschätzung ist zudem ein ausreichend großer Pool von Expositions- und toxikologischen Daten erforderlich, mit welchen diese theoretischen Risikomodelle gefüttert werden müssen. Ein solcher Datenpool ist derzeit aber nicht vorhanden. So existieren für synthetische Nanopartikel beispielsweise keine Daten aus epidemiologischen Studien, welche für Risikobetrachtungen verwendet werden könnten (*Kandlikar et al. 2007*). Ein ausreichend großer Datenpool dürfte erst mittel- bzw. langfristig vorliegen.

Nach *Arndt (2007)* vom Bundesumweltministerium (BMU) müsse allerdings trotz Wissenslücken mit den vorhandenen Daten und Informationen eine erste Bewertung ausgewählter Nano-Produkte hinsichtlich möglicher Risiken bei der Verwendung erfolgen. Dies gilt insbesondere für Nanomaterialien in Anwendungsbereichen, bei denen diese nicht fest in ein Produkt eingebunden sind und mit denen der Mensch z. B. durch Einatmen, über die Haut oder die Nahrung in Berührung kommen kann.

Maynard und Kuempel (2005) sind der Meinung, dass ausreichende Informationen vorliegen, um zumindest mit einer vorläufigen Gefährdungs-Abschätzung zu beginnen und behelfsmäßige Handlungsempfehlungen für die Praxis zu entwickeln. Ihre Aussage bezieht sich allerdings ausschließlich auf den Arbeitsschutz. Auf die Abschätzung der möglichen gesundheitlichen Risiken für den Menschen nach inhalativer umweltbezogener Exposition kann dies nicht bezogen werden.

Neben der dringenden Aufgabe der Ermittlung der Risiken durch Nanomaterialien muss zukünftig auch die Frage beantwortet werden, welches (zusätzliche) Risiko durch neuartige synthetische Nanopartikel denn als hinnehmbar erachtet wird.

Alles in allem muss es das Ziel sein, eine Weiterentwicklung der Nanotechnologie unter gleichzeitiger Identifizierung der möglichen Gesundheitsrisiken zu erreichen.

5.2 Gesetzliche Regelungen

Ob die Nanotechnologie durch bestehende Gesetze bereits ausreichend geregelt ist, um die mit ihr möglicherweise verbundenen Risiken zu beherrschen, beurteilen die beteiligten Akteure unterschiedlich. So hält nach *UBA (2006)* beispielsweise der Verband der Chemischen Industrie e. V. (Positionspapier Oktober 2005) neue gesetzliche Regelungen nicht für erforderlich. Das *UBA* teilt diese Auffassung allerdings nicht. Nach Auffassung des *UBA (2006)* ist das Risikopotenzial aufgrund der neuartigen Toxizität in bestehenden stoffrechtlichen Regelungen nicht ausreichend berücksichtigt.

Die Royal Society in Großbritannien sieht zum Zeitpunkt der Erstellung ihres Berichtes zwar keinen Bedarf für eigenständige nanotechnologische Regelungen, bestehende Regelungen sollten aber ergänzt werden (*The Royal Society 2004*).

Derzeit können jedoch spezifische regulatorische Maßnahmen bezogen auf gesundheitliche Risiken durch Nanomaterialien noch nicht festgesetzt werden, da noch unklar ist, worauf diese eigentlich genau abzielen sollen (*Krug 2005a*).

Insgesamt ist aufgrund der zu erwartenden neuartigen Toxizität abzusehen, dass bestehende Regelungen nicht hinreichend sein dürften. So sind beispielsweise SWCNT bislang lediglich als neue Form von Graphit in Sicherheitsdatenblättern klassifiziert. Nach Auffassung von *Helland (2004)* zeigen aber Studien, dass die dort angebenen Expositionsbegrenzungen für Materialien auf Graphitbasis nicht adäquat die Exposition gegenüber SWCNT begrenzen können. Für SWCNT sei daher eine andere, eigene Expositionsbegrenzung sinnvoll (*Helland 2004*).

Es zeichnet sich ab, dass eine starre nur auf Obergruppen (Fullerene, Nanoröhren, Quantenpunkte) bezogene zukünftige Gefährdungs- bzw. Risikobewertung nicht adäquat ist. Unterschiedliche Arten beispielsweise von Quantenpunkten dürften eine eigene individuelle Einstufung erfordern. Auch eine Einordnung anhand einer einzelnen physikochemischen Eigenschaft (z. B. Größe) dürfte dem Wirkungscharakter u. U. nicht ausreichend Rechnung tragen. So ist nach *Hardman (2006)* eine Klassifizierung von Quantenpunkten hinsichtlich der (potenziellen) Toxizität allein basierend auf der Größe oder einer anderen einzelnen physikochemischen Eigenschaft problematisch. Jeder Quantenpunkt-Typ bedürfe bezüglich seiner Toxizität einer individuellen Charakterisierung.

Ziel sollte daher die Entwicklung eines Klassifizierungsschemas hinsichtlich der gesundheitlichen Risiken sein, welches möglichst dem individuellen Charakter der einzelnen neuartigen synthetischen Nanopartikeln Rechnung trägt. In dieses sollten auch realistische Expositionsdaten einfließen. Es stellt sich hierbei allerdings die Frage, ob eine solch feine Differenzierung leistbar ist, da hierzu aus methodischen Gründen ein immenser Aufwand betrieben werden müsste.

Um zu klären, ob die derzeitigen rechtlichen Regelungen hinreichend sind oder nicht, hat das Umweltbundesamt ein entsprechendes Gutachten beim Öko-Institut e. V., Freiburg in Auftrag gegeben (*UBA 2006*). In diesem wurden der derzeitige Rechtsrahmen analysiert und Vorschläge für mögliche Maßnahmen entwickelt (*Öko-Institut, 2006*). Darin wurde insbesondere versucht, die Frage nach der zukünftigen Einbindung der Nanomaterialien in das geltende Stoffrecht und in das Anlagenzulassungsrecht zu beantworten.

5.2.1 Stoffrecht

Bei seinen Überlegungen zum *Stoffrecht* geht das Öko-Institut davon aus, dass der zentrale Anknüpfungspunkt im Chemikalienrecht der „Stoff“ ist. Definiert wird ein Stoff durch die ihm eigenen und damit für ihn charakteristischen physikalischen und chemischen Eigenschaften, wobei man bisher davon ausging, dass diese von seiner Größe und Gestalt unabhängig sind. Mit Blick auf die vorliegenden Kenntnisse über Stoffe im Nano-Format – insbesondere das stark veränderte Oberflächen-Volumenverhältnis und den daraus ggf. resultierenden Besonderheiten – erscheint diese Annahme jedoch als überholt. Nach *Öko-Institut (2006)* spricht vieles dafür, dass das unterschiedliche Verhalten *ein und derselben Chemikalie* im Nano-Format einerseits und im Nicht-Nano-Format andererseits eine entsprechend separate Betrachtung erfordert. Demnach sind nanoskalige Chemikalien im Sinne des Stoffrechts als eigenständige Stoffe zu betrachten, da sie gegenüber ihrer nicht-nanoskaligen Erscheinungsweise andersartige Eigenschaften aufweisen. Bei Veränderung der Partikelgröße derselben chemischen Substanz könne somit eine Veränderung der charakteristischen Eigenschaft und daraus folgend eine Veränderung der Gefährlichkeit eines Stoffes angenommen werden.

Alternativ können nach *Öko-Institut (2006)* die unterschiedlichen Erscheinungsformen eines Stoffes mit seiner jeweiligen Gefährdung unter dem Oberbegriff nur eines Stoffes zusammengefasst werden. Damit würde die notwendige separate Betrachtung unterhalb der Ebene des Stoffbegriffs erfolgen. Bei der Bildung von Unterkategorien stellen sich nach *Öko-Institut (2006)* allerdings juristische und umsetzungspraktische Fragen. Aus juristischer Sicht wäre zu klären, wer unter welchen Voraussetzungen zur Bildung solcher Unterkategorien befugt ist. Umsetzungspraktisch stünde man vor der Aufgabe, die Erweiterung um die Unterkategorien in den heute verwendeten Datenbanken abzubilden.

Die Tabelle 4 gibt einen Überblick über die Regulierungssituation von Nanomaterialien nach bisheriger und aktueller (ab 1.6.2008) Rechtslage. Hierbei wird unterschieden zwischen Stoffen, die ausschließlich im Nanoformat vorliegen (exklusive NM) und Stoffen, die neben ihrer nanoskaligen Erscheinungsform auch noch in einer nicht-nanoskaligen Erscheinungsform auftreten (nicht exklusive NM).

Tabelle 4: Überblick über die Regulierungssituation von Nanomaterialien (NM) im Stoffrecht nach bisheriger und aktueller Rechtslage (Merenyi et al. 2007)

	Bisheriges Recht *	REACH **
Exklusive NM (Stoffe, die ausschließlich im Nanoformat vorliegen, z. B. CNTs, Fullerene)	Sind immer als Neustoffe zu behandeln, da nicht in EINECS - Anmeldepflicht ab 10 kg <i>Lücke:</i> geeignete Testverfahren	Ab 1.6.2008 - Registrierungspflicht ab 1 t/a <i>Lücke:</i> Erreichen der Mengenschwelle, geeignete Testverfahren
Nicht exklusive NM (Stoffe, die neben ihrer nanoskaligen Erscheinungsform auch noch in einer nicht-nanoskaligen Erscheinungsform auftreten, z. B. TiO ₂ – nanoskalig als UV-Absorber in Sonnenschutz; nicht-nanoskalig als Weißpigment)	Sind in Abhängigkeit von ihrer nicht-nanoskaligen Erscheinungsform den Alt- oder Neustoffen zuzuordnen a) Nicht-nanoskalige Erscheinungsform = Altstoff → auch die nanoskalige Erscheinungsform ist als Altstoff zu behandeln (Bsp.: TiO ₂) <i>Lücke:</i> innerhalb des Altstoffsystems KEINE separate Betrachtung der nanoskaligen von der nicht-nanoskaligen Form → schon Bestimmung des Erreichens der Mengenschwelle unklar - ggf. Aktualisierungspflicht gem. Art. 7 Abs. 1/2 ESR hinsichtlich bekannter Daten, aber nur wenn „Altstoff“ min. 10 t/a b) Nicht-nanoskalige Erscheinungsform = Neustoff → auch die nanoskalige Erscheinungsform ist als Neustoff zu behandeln <i>Lücke:</i> auch innerhalb des Neustoffsystems KEINE separate Betrachtung der nanoskaligen von der nicht-nanoskaligen Form → schon Bestimmung des Erreichens der Mengenschwelle unklar - Anmeldung ab 10 kg - ggf. Mitteilungspflicht von Änderungen (§16 ChemG)	Sind in Abhängigkeit von ihrer nicht-nanoskaligen Erscheinungsform den Alt- oder Neustoffen zuzuordnen a) nicht-nanoskalige Erscheinungsform = Altstoff → auch die nanoskalige Erscheinungsform ist als Altstoff zu behandeln → wird unter REACH Phase-in-Stoff → Registrierungspflicht ab 1 t/a nach Übergangsfrist (max. bis 2018) Ab Juni 2008 keine Aktualisierungspflicht mehr bis eine Registrierung erfolgt ist b) Nicht-nanoskalige Erscheinungsform = Neustoff → auch die nanoskalige Erscheinungsform ist als Neustoff zu behandeln Registrierungspflicht ab 1 t/a (mit Ausnahme angemeldeter Stoffe) <i>Grundlegende Lücke auch hier:</i> KEINE separate Betrachtung der nanoskaligen von der nicht-nanoskaligen Form → schon Bestimmung des Erreichens der Mengenschwelle unklar. <i>Außerdem:</i> Erreichen der Mengenschwelle, geeignete Testverfahren

* verschiedene gesetzliche Regelungen wie beispielsweise Einstufung, Verpackung und Kennzeichnung gefährlicher Stoffe, Richtlinie 67/548/EWG,

** Verordnung zur Registrierung, Bewertung, Zulassung und Beschränkung chemischer Stoffe (REACH-VO); Verordnung (EG) Nr. 1907/2006.

Treten Stoffe ausschließlich in nanoskaliger Teilchengröße auf (= exklusive NM wie z. B. CNT), unterliegen sie bei Erreichen der jeweiligen Mengenschwellen derzeit den Anforderungen des Neustoffrechts, zukünftig denen nach REACH. Weder die bisherigen, noch die ab dem 1.6.2008 geltenden Anforderungen beinhalten nach Merenyi et al. (2007) aber bisher ausreichende speziell auf diese Stoffgruppe zugeschnittene Tests und Risikobeurteilungskonzepte.

Tritt eine Chemikalie neben der nanoskaligen zusätzlich in einer nicht-nanoskaligen Erscheinungsform auf (= nicht exklusive NM, wie z. B. TiO₂, nanoskalig als UV-Absorber, nicht-nanoskalig als Weißpigment), wird die Unterscheidung zwischen diesen beiden Erscheinungsformen weder durch das aktuelle noch durch das zukünftige Chemikalienrecht sichergestellt. In der Folge fehlt es auch an einer systematischen Betrachtung dieser unterschiedlichen Erscheinungsformen und damit an der Transparenz hinsichtlich ihrer ggf. unterschiedlichen Risiken. Aus chemikalienrechtlicher Sicht stellt sich die Regulierungssituation von NM damit als unzureichend dar.

Es stellt sich nach *Merenyi et al. (2007)* zudem die Frage, ob der für exklusive NM und nicht exklusive NM für die Registrierungspflicht entscheidende Mengenschwellen-Ansatz im Tonnenmaßstab überhaupt geeignet ist, die von Nanomaterialien ausgehenden Risiken erkennbar zu machen. Da nanoskalige Stoffe, wie das Beispiel TiO₂ als UV-Absorber zeigt, auch in Kosmetika und damit in unmittelbarer Nähe zum menschlichen Körper eingesetzt werden, sollte der Gesetzgeber nach Auffassung der Autoren dafür Sorge tragen, dass Stoffe dieser Art vor ihrem Einsatz auch dann getestet werden, wenn sie die nach dem allg. Chemikalienrecht, zukünftig REACh, erforderlichen Mengenschwellen von 1 t nicht erreichen. Statt einer „Tonnen-Philosophie“ könnte man nach *Merenyi et al. (2007)* für NM an deren charakteristische Eigenschaft, die Oberflächenaktivität, anknüpfen und die stoffrechtlichen Pflichten danach staffeln.

Des Weiteren sei es bezüglich Nanomaterialien insgesamt verfehlt, sich mit (stoff)rechtlichen Fragestellungen erst dann auseinanderzusetzen, wenn die Frage, ob und welche Risiken mit NM verbunden sind, zweifelsfrei beantwortet ist. Das Recht solle vielmehr dazu beitragen, für diese spezifische Stoffgruppe die Ziele zu erreichen, die REACh allgemein für Stoffe anstrebt: Die eigenverantwortliche Ermittlung der Risiken zu initiieren und effektive Mechanismen des Risiko-Managements zu etablieren.

Merenyi et al. (2007) sprechen sich allerdings gegen eine gesonderte „Nano-Regulierung“ durch Schaffung eines eigenständigen Rechtsrahmens aus. Nanomaterialien werden ihrer Auffassung nach als chemische Elemente und chemische Verbindungen in Form der Nanopartikel vom geltenden Chemikalienrecht erfasst und sollten, einem einheitlichen Regulierungsansatz ansprechend, auch hier verortet werden. Auf eine spezielle „Nano-Regelung“ zu verzichten liege auch im Interesse des Regelungsadressaten, weil dieser dann alle Vorgaben in einem Regelwerk auffinden könne.

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass die Risiken von Nanomaterialien auf unterschiedliche Art und Weise berücksichtigt werden können. Wie auch immer eine zukünftige Lösung im Stoffrecht aussehen mag. Entscheidend ist, dass die regulatorischen Strukturen den Risiken von neuartigen synthetischen Nanoartikeln sowie den unterschiedlichen Risiken derselben chemischen Substanz im Nano-Format und im Nicht-Nano-Format Rechnung tragen. Nach *Merenyi et al. (2007)* können die aktuellen und zukünftig vorgesehenen Rechtsgrundlagen dies aber nicht (immer) leisten.

5.2.2 Anlagenzulassungsrecht

Im Hinblick auf das *Anlagenrecht* könnte laut *Öko-Institut (2006)* die *emissionsseitige* Konkretisierung dadurch erfolgen, indem Angaben zur Emissionsvermeidung von Nanopartikeln in die Referenz-Dokumente zu den besten verfügbaren Techniken (BREF) aufgenommen werden. Dies hätte allerdings zunächst einmal empfehlenden Charakter, da die EU-Mitgliedsstaaten nicht verpflichtet sind, die Angaben aus den BREF-Dokumenten in Genehmigungsaufgaben umzusetzen.

Eine *immissionsbezogene* Vorgabe innerhalb des Anlagenrechts kann nach Auffassung des *Öko-Institutes (2006)* angesichts der Vielfalt möglicher Nanomaterialien auf absehbare Zeit

kaum stoffspezifisch erfolgen. Zu suchen wäre vielmehr nach einem geeigneten übergreifenden Parameter, der etwa an das spezifische Gefährdungspotenzial der Nanomaterialien anknüpft. In Betracht käme hier unter Umständen eine Größe, die die „Oberflächenaktivität“ erfasst. Hingegen wären massenbezogene Vorgaben (mg/m^3) wohl ebenso wenig geeignet wie eine auf die Anzahl der Partikel bezogene Größe, weil nicht die Anzahl, sondern die spezifischen Eigenschaften die Gefährdung für den Menschen ausmachen (*Öko-Institut 2006*).

Nach Auffassung des BUND (*Horn und Kühling 2007*) seien im Rahmen einer integrierten Anlagengenehmigung nach BImSchG zusätzliche Regelungen und Genehmigungspflichten einzuführen, die spezifisch die Risiken von Nanomaterialien berücksichtigen. Solange Hinweise auf Risiken von Stoffen, Produkten etc. bestehen, sind nach BUND Emissionen und Immissionen zu minimieren, analog der Anwendung des Minimierungsgebotes für die Emissionen krebserzeugender Stoffe nach TA Luft. Darüber hinaus sei im immissionsschutzrechtlichen Regelwerk eine neue Grenzwertkategorie erforderlich, bei der z. B. die Oberfläche von Partikeln einbezogen wird (z. B. physikalische Größe der Oberflächenspannung).

5.2.3 Gefahrenabwehr und Vorsorge

Allgemein kann der Gesetzgeber hinsichtlich regulatorischer Maßnahmen für Nanomaterialien, wie auch bei gesundheitsschädlichen Stoffen generell, aus der Perspektive der Gefahrenabwehr und der Vorsorge tätig werden. Stützt sich dieser auf die Gefahrenabwehr, setzt dies die hinreichende Wahrscheinlichkeit eines Schadeneintritts voraus. Eine Gefahr liegt nach der klassischen Begriffsdefinition dort vor, wo „aus gewissen gegenwärtigen Zuständen nach dem Gesetz der Kausalität gewisse andere Schaden bringende Zustände und Ereignisse erwachsen werden“.

Nach Öko-Institut fehlt es bezüglich Nanomaterialien an der Gewissheit eines Schadenseintritts, wie auch das Bundesverwaltungsgericht in seinem Urteil zu Nanopartikeln (BVerwGE 119, 329 (335) = NVwZ 2004, 610; sogenannte "Nanopulver-Entscheidung") festgestellt habe. Das Öko-Institut greift hier die herrschende Auffassung auf, wonach auf der Basis der vorliegenden Daten derzeit keine Evidenz für einen kausalen Zusammenhang zwischen NSNP und nachteiligen gesundheitlichen Effekten gesehen wird. Für die große Mehrzahl der Nanomaterialien dürfte nach Ansicht des Öko-Institutes daher gegenwärtig eine Gefahrensituation zu verneinen sein. Hierzu sollte aber angemerkt werden, dass die Evidenz für einen möglichen kausalen Zusammenhang insbesondere deshalb fehlt, weil die hierfür erforderlichen Untersuchungen derzeit nicht vorhanden sind.

Eine Verneinung einer Gefahrensituation für Nanopartikel sollte nicht generell mit dem Urteil des Bundesverwaltungsgerichtes begründet werden. Das Gerichtsurteil stellt lediglich für eine einzelne industrielle Anlage auf die Irrelevanz des verursachten Immissionsbeitrages ab.

Zudem ist der vom bestellten Sachverständigen - in Ermangelung geeigneter Bewertungskriterien - herangezogene hilfsweise Bewertungsansatz zur Beurteilung der Irrelevanz, welcher auf die Wirkungsunterschiede zwischen feinen und nanoskaligen Partikeln abstellt, aus fachlicher Sicht nicht belastbar. Der Sachverständige hatte den seinerzeit für kanzerogene Wirkungen entwickelten Beurteilungsmaßstab des Länderausschusses für Immissionsschutz (LAI 1992) für Dieselruß (LAI-Zielwert $1,5 \mu\text{g}/\text{m}^3$) als Ausgangspunkt einer geeigneten Hilfskonstruktion zur Bewertung gewählt, da dieser Wert seiner Auffassung nach als "Nadelöhr" für alle weiteren toxikologischen Betrachtungen dienen könne. So stehe der LAI-Zielwert für Dieselruß stellvertretend für schwer- bzw. unlösliche feine Partikel ungeachtet deren Herkunft und der angelagerten organischen und anorganischen Komponenten. Der stärkeren Oberflächenwirksamkeit von Nanopartikeln gegenüber (feinen) Dieselrußpartikeln und der Toxizität der Inhaltsstoffe von Nanopartikeln und der an deren Oberfläche angelagerten Stoff-

fe wurde vom Sachverständigen durch Berücksichtigung eines zusätzlichen Faktors von 100 Rechnung getragen. Hierdurch ergab sich ein Beurteilungswert von 15 ng/m^3 , welcher dann vom Sachverständigen für die Bewertung verwendet wurde.

Nach derzeitigem Kenntnisstand kann zwar von einer stärkeren Toxizität nanoskaliger Partikel gegenüber der feiner Partikel bei gleicher chemischer Zusammensetzung ausgegangen werden, exakt quantifizieren lässt sich dieser Toxizitätsunterschied derzeit allerdings nicht. In welchem Maße nanoskalige Partikel toxischer wirken als feine Partikel gleicher chemischer Zusammensetzung wird derzeit intensiv erforscht. Schlussfolgerungen hierzu liegen nicht vor. Die Ableitung eines quantitativen Faktors, der diesem Toxizitätsunterschied Rechnung trägt, ist daher zurzeit nicht möglich. Darüber hinaus bezieht sich der LAI-Zielwert für Ruß auf ein Messverfahren für elementaren Kohlenstoff und ist auch von daher nicht auf Nanomaterialien jedweder Zusammensetzung anwendbar.

Neben der Gefahrenabwehr kann sich der Gesetzgeber auf den Grundsatz der *Vorsorge* stützen. Nach Auffassung des Öko-Institutes dürfte unter Einbeziehung der Erkenntnisse des Umweltbundesamtes im Hinblick auf die besonderen Eigenschaften der Nanomaterialien ein Besorgnis-Potenzial zu bejahen sein. Demnach seien die hoheitlichen Organe (der EU und der Nationalstaaten) diesem Vorsorge-Grundsatz verpflichtet und aufgerufen, tätig zu werden. Bei der Frage, welches Gewicht dem Besorgnis-Potenzial beizumessen ist und welche Handlungsmöglichkeiten in Betracht kommen, stehe dem Gesetzgeber aber ein beträchtlicher Einschätzungs- und Beurteilungsspielraum zur Verfügung. Die Grundsätze der Gleichbehandlung und der Verhältnismäßigkeit wären aber zu beachten.

Auch nach *Arndt (2007)* vom Bundesumweltministerium sei ein vom Prinzip der Vorsorge getragener Umgang mit Nanomaterialien erforderlich. Dies kann für den Schutz von Arbeitnehmern, Verbrauchern und der Umwelt in Leitfäden für einen verantwortungsvollen Umgang mit Nanomaterialien dargelegt werden.

Auch der BUND formuliert verschiedene Forderungen zum verantwortungsvollen Umgang mit der Nanotechnologie (*Horn und Kühling 2007*). Nach Auffassung des BUND machen die in Ansätzen bereits sichtbaren Gefährdungen für Mensch und Umwelt dringend eine strikte Anwendung des Vorsorgeprinzips beim Umgang mit der Nanotechnologie erforderlich. Solange Gefährdungen und Risiken durch Nanotechnologie nicht ausgeschlossen werden könnten, sollten zumindest für umweltoffene Anwendungen Produktverbote greifen. Der BUND sei sich darüber im Klaren, dass dies eine sehr weitgehende Forderung ist. Bereits eingetretene Entwicklungen und Entscheidungen, deren Risikopotenzial als hoch eingeschätzt wird, sollen offen und transparent problematisiert und über gesetzliche Regelungen umkehrbar gemacht werden.

Bei der Einführung neuer Produkte unter Einsatz von Nanotechnologien sei die Umkehr der Beweislast notwendig, da häufig aufgrund von Nichtwissen ein im Sinne der Gesetzgebung zweifelsfreier Beweis der Gefährdung nicht geführt werden kann. Es müsse nach BUND der Grundsatz „*no data – no market*“ geltend gemacht werden. Des Weiteren plädiert der BUND für eine Aufnahme der Substanzklasse „Nanochemikalien“ und eine Einstufung zumindest als „umweltgefährlich“ nach Chemikaliengesetz und Gefahrstoffverordnung.

Eine konsequente Umsetzung des Vorsorgeprinzips hat die britische „Soil Association“, eine der Weltpioniere des ökologischen Landbaus, mit ihrer aktuellen Standardsetzung vorgenommen. Der Unwissenheit über die Sicherheit trägt diese dadurch Rechnung, indem sie im Januar 2008 verkündete, dass nunmehr in den von ihnen zertifizierten Ökoprodukten wie Kosmetika, Nahrungsmittel und Textilien synthetisch hergestellte Nanomaterialien verboten sind. Dieses Verbot bezieht im Detail auf synthetisch hergestellte Nanomaterialien mit einem Grundmaß („*basic particle size*“) von kleiner 125 nm und einer mittleren Größe („*mean particle size*“) von kleiner 200 nm. Mit dem gleichzeitig eingeführten Symbol für „nano-freie“ Produkte liegt nach Auskunft der Action Group on Erosion, Technology and Concentration“ (ETC Group, Kanada) der weltweit erste „nano-freie“ Standard vor. Die ETC Group merkt im Zu-

sammenhang mit der Standardsetzung der britischen „Soil Association“ kritisch an, dass bis heute keine Regierung ein Gesetz erlassen hat, welches eine Abschätzung der Sicherheit von Nanomaterialien verbindlich vorschreibt (www.etcgroup.org).

Auch die schwedische Chemiebehörde Kemi fordert von Firmen die Nanotechnologieprodukte entwickeln, das Vorsorgeprinzip besser einzuhalten. Damit sollen Umwelt- und Gesundheitsrisiken vermindert werden. Es gebe eine rasante Entwicklung in diesem Bereich, aber zu wenig Wissen über die Risiken, warnte das Amt. Oft fielen fertige Nanoprodukte durch das Sicherheitsraster des EU-Chemikalienrechts, weshalb ein neuer Regelungsrahmen geschaffen werden müsse (www.kemi.se).

5.3 Fazit: Gesetzliche Regelungen und Handlungsbedarf

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass im Stoffrecht die Risiken von Nanomaterialien auf unterschiedliche Art und Weise berücksichtigt werden können. Wie auch immer eine zukünftige Lösung im Stoffrecht aussehen mag, entscheidend ist, dass die regulatorischen Strukturen den Risiken von neuartigen synthetischen Nanoartikeln sowie den unterschiedlichen Risiken derselben chemischen Substanz im Nano-Format und im Nicht-Nano-Format Rechnung tragen.

Hinsichtlich des Immissionsschutzes wäre der Schutz und die Vorsorge vor möglichen gesundheitlichen Wirkungen durch neuartige synthetische Nanopartikel nach umweltbedingter inhalativer Exposition - sofern sich dies als erforderlich erweist - in den entsprechenden immissionsschutzrechtlichen Regelungen wie dem BImSchG zu verankern. Für den Schutz der Bevölkerung einschließlich empfindlicher Personengruppen wäre konkret zu beantworten, ob und welche speziellen Regelungen zur allgemeinen Luftreinhaltung erforderlich sind. Dies betrifft auch die Sicherstellung des Schutzes vor schädlichen Umwelteinwirkungen bei der Genehmigung und Überwachung von Anlagen nach dem BImSchG. Entsprechende Regelungen hierfür wären insbesondere in den untergesetzlichen Regelwerken wie der TA Luft zu installieren. Diese könnten, wie auch vom *Öko-Institut (2006)* ausgeführt, anhand von emissions- und/oder immissionsbegrenzenden Werten erfolgen. Zurzeit existieren keine entsprechenden spezifischen Regelungen. Auch das Büro für Technikfolgenabschätzung des Deutschen Bundestages hält es für erforderlich, den Regulierungsbedarf hinsichtlich Bundesimmissionsschutzgesetz und TA Luft zu klären (*TAB 2003*).

6. Literatur

- Adelmann, P. et al. (1994): Effects of fullerenes on alveolar macrophages in vitro, In: Toxic and carcinogenic effects of solid particles in the respiratory tract ; Hrsg.: Mohr, U. et al., ILSI Press, Washington DC.
- Aitken, R. J. et al. (2004): Nanoparticles: An occupational hygiene review, Research Report 274, Prepared by the Institute of Occupational Medicine for the health and safety Executive 2004, HSE Books, ISBN 0717629082.
- Allan, A. (2004): Nanomed, Nanobiotechnology and Medicine, <http://www.f5nanomed.org>.
- Arndt (2007), BMU, in: Dialog NanoCare, Verantwortlicher Umgang mit Nanomaterialien, Tagungsunterlagen – Abstracts und Statements, 6. November 2007, Düsseldorf.
- Baierl, T. et al. (1996): Comparison of immunological effects of fullerene C60 and raw soot from fullerene production on alveolar macrophages and macrophage like cells in vitro, *Esxp. Toxicol. Pathol.*, 45:508-511.
- Baierl, T. und Seidel, A. (1996): In vitro effects of fullerene C-60 and fullerene black on immunofunctions of macrophages, *Fullerene Sci. Technol.*, 45: 1073-1085.
- Ballou, B. et al. (2004): Noninvasive imaging of quantum dots in mice, *Bioconjug. Chem.* 15 (1): 79-86.
- Bang, J.J. et al. (2004): Carbon nanotubes and other fullerene nanocrystals in domestic propane and natural gas combustion streams, *J. Nanosci. Nanotechnol.* 4 (7) :716
- Baua (2006): Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin, BfR (Bundesinstitut für Risikobewertung), Umwelt bundesamt (2006): Nanotechnologie: Gesundheits- und Umweltrisiken von Nanopartikeln, -Entwurf einer Forschungsstrategie-, August 2006
- Bazile, D. V. et al. (1992): Body distribution of fully biodegradable (14C)-poly(lactic acid) nanoparticles coated with albumin after parental administration to rats, *Biomaterials* 13 (15): 1093-1102.
- BfR (Bundesinstitut für Risikobewertung) (2006): Nanotechnologie – Einsatz, Trends und Risiken, *Umweltmed. Forsch. Prax.* 11 (2): 102.
- BMBF (Bundesministerium für Bildung und Forschung) (2006): NanoforLife – Nanotechnologie für die Gesundheit, 2006, <http://www.bmbf.de/de/5063.php>.
- BMU (2005): Stakeholder-Dialog – Synthetische Nanopartikel, Hrsg.: BMU, UBA, BAuA und iku GmbH, Dokumentation „Dialog zur Bewertung von synthetischen Nanopartikeln in Arbeits- und Umweltbereichen“, S. 28, 11. und 12. Oktober 2005 im Bundesumweltministerium, Bonn.
- Boeing N. und C. Niemann (2008): Riskante Zwerg, *Greenpeace Magazin* 2: 58-64.
- Bottini, M. et al. (2006): Multi-walled carbon nanotubes induce T lymphocyte apoptosis, *Toxicology Letters* 160 (2): 121-126.
- Borm, P. J. A. (2002): Particle toxicology: From coal mining to nanotechnology, *Inhalation Toxicology*, 154: 311-324.
- Borm, P. J. A. und Kreyling, W. (2004): Toxicological hazards of inhaled nanoparticles – Potential implications for drug delivery, *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, Vol. 4, No. 5: 521-531.
- Borm, P. J. A. et al. (2006): The potential risks of nanomaterials: a review carried out for ECETOC, *Particle and Fibre Toxicology*, 3: 11.
- Boyd, J. (2007): <http://www.media.rice.edu/media/NewsBot.asp?MODE=VIEW&ID=10023&SnID=281790886>
<<http://www.media.rice.edu/media/NewsBot.asp?MODE=VIEW&ID=10023&SnID=281790886>>.
- Braydich-Stolle, L. (2005): In vitro toxicity of nanoparticles in mammalian germline stem cells, *Toxicological Sciences* 88 (2): 412-419.
- Brown, D. M. et al. (2001): Size-dependent proinflammatory effects of ultrafine polystyrene Particles: A role for surface area and oxidative stress in the enhanced activity of ultrafines, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 175: 191-199.
- Bruch, J. (2007): Entwicklung und Validierung von In-vitro-Testmethoden zur Bestimmung biologischer Wirkungen, in: Dialog NanoCare, Verantwortlicher Umgang mit Nanomaterialien, Tagungsunterlagen – Abstracts und Statements, 6. November 2007, Düsseldorf: 5-6
- Brüske-Hohlfeld, I. (2005): Epidemiological studies concerning intentionally produced nanoparticles. In: Stakeholder-Dialog – Synthetische Nanopartikel, Hrsg.: BMU, UBA, BAuA und iku GmbH, Dokumentation „Dialog zur Bewertung von synthetischen Nanopartikeln in Arbeits- und Umweltbereichen“, S. 12, 11. und 12. Oktober 2005 im Bundesumweltministerium, Bonn.

- Cagle, D. W. et al. (1999): In vivo studies of fullerene-based materials using endohedral metallofullerene radiotracers, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96: 5182-5187.
- CDC/NIOSH (2006): Approaches to safe nanotechnology: an information exchange with NIOSH, Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, National Institute for Occupational Safety and Health, Version 1.1, July 2006.
- Chan, W. H. et al. (2006): CdSe quantum dots induce apoptosis in human neuroblastoma cells via mitochondrial-dependent pathways and inhibition of survival signals, *Toxicology Letters*, 167: 191-200.
- Chen, F. Q. und Gerion, D. (2004): Fluorescent CdSe/ZnS nanocrystal-peptide conjugates for long-term, nontoxic imaging and nuclear targeting in living cells, *Nano. Lett.* 4: 1827-1832.
- Claus, F. und Lahl, U. (2006): Synthetische Nanopartikel – Entwicklungschancen im Dialog, *UWSF – Z Umweltchem Ökotox* 3: 1-3.
- Colvin, V. (2003): The potential environmental impact of engineered nanomaterials; *Nature Biotechnology* 21 (10), 1166-1170.
- Cui, D. et al. (2005): Effect of single wall carbon nanotubes on human HEK293 cells, *Toxicology Letters* 155 (1): 73-85.
- Dailey, L. A. et al. (2006): Investigation of the proinflammatory potential of biodegradable nanoparticle drug delivery systems in the lung, *Toxicology and Applied Pharmacology* 215: 100-108.
- Davis, J. M. (2007): How to assess the Risks of Nanotechnology: Learning from past experience, *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, Vol. 7: 402-409.
- Derfus, A. M. et al. (2004): Probing the cytotoxicity of semiconductor quantum dots. *Nano Lett.* 4 (1), 11-18.
- Dietz, V. (2004): Innovations- und Technikanalyse zur Nanotechnologie, *Technikfolgenabschätzung* 2: 20-25.
- Ding, L. (2005): Molecular characterization of the cytotoxic mechanism of Multiwall Carbon Nanotubes and Nano-Onions on human skin fibroblast, *Nano Letters*, Vol. 5, No. 12: 2448-2464.
- Donaldson, K. et al. (2004): Nanotoxicology, *Occupational and Environmental Medicine* 61: 727-728.
- Donaldson, K. et al. (2006): Carbon nanotubes: A review of their properties in relation to pulmonary toxicology and workplace safety, *Toxicological Sciences* 92 (1): 5-22.
- Dreher, K. L. et al. (2004): Health and environmental impact of nanotechnology: Toxicological assessment of manufactured nanoparticles, *Toxicological Sciences* 77: 3-5.
- Dubertret, B. et al. (2002): In vivo imaging of quantum dots encapsulated in phospholipid micelles, *science* 298 (5599): 1759-1762.
- Duncan, R. und Izzo, L. (2005): Dendrimer biocompatibility and toxicity, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57: 2215-2237.
- Elder, A. et al. (2006): Translocation of inhaled ultrafine Manganese oxide particles to the central nervous system, *Environmental Health Perspectives*, Vol. 114, No. 8: 1172-1178.
- Englert, B. C. (2007): Nanomaterials and the environment: uses, methods and measurement, *J. Environ. Monit.* 9: 1154-1161.
- EPA (U. S. Environmental Protection Agency) (2006): Nanotechnology Research Projects Nanotechnology Implications: Toxicology, http://es.epa.gov/ncer/nano/research/nano_Tox.html.
- EPA (U. S. Environmental Protection Agency) (2007): Nanotechnology White Paper, EPA 100/B-07/001, February 2007, Washington, DC, <http://www.epa.gov/osa/nanotech.htm>
- Esquivel, E. V. und Murr, L. E. (2004): A TEM analysis of nanoparticulates in a polar ice core, *Materials Characterization* 52 (1): 15
- Evelyn, A. et al. (2003): Unusual carbon-based nanofibers and chains among diesel-emitted particles, *Nano. Lett.* 3: 63-64.
- Feron, V. J. et al. (2002): Health risks associated with inhaled nasal toxicants, *Crit Rev Toxicol.* 31(3): 313-347.
- Fiorito, S. et al. (2006): Toxicity and biocompatibility of Carbon Nanoparticles, *J. Nanosci. Nanotechnol.* 6 (3): 591-599.
- Foley, S. et al. (2002): Cellular localisation of a water-soluble fullerene derivative, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 294: 116-119.
- Fond, A. M. und Meyer, G. J. (2006): Biototoxicity of metal oxides, In: *Nanotechnologies for the Life Sciences Volume 5, Nanomaterials-Toxicity, health and environmental issues*, Kumar, C. (Hrsg.), Wiley-VCH Verlag, Weinheim, S. 33-54.

- Fortner, J. D. (2005): C₆₀ in water: Nanocrystal formation and microbial response, *Environmental Science & technology* 39 (11): 4307-4316.
- Grubek-Jaworska, H. et al. (2006): Preliminary results on the pathogenic effects on intratracheal exposure to one-dimensional nanocarbons, *Carbon* 44(6):1057.
- GSF (2004): Institut für Inhalationsbiologie, Jahresbericht 2004: 147-152.
- Gupta, A. K. und Gupta, M. (2005): Cytotoxicity suppression and cellular uptake enhancement of surface modified magnetic nanoparticles, *Biomaterials* 26: 1565-1573.
- Guzman, M. et al. (2000): Effect of nanoparticles on digitoxin uptake and pharmacologic activity in rat glomerular mesangial cell cultures, *Drug Delivery*, 7: 215-222.
- Hardman, R. (2006): A toxicological review of quantum dots: Toxicity depends on physicochemical and environmental factors, *Environ. Health Perspec.* 114 (2), 165-172.
- Hanaki, K. I. et al. (2003): Semiconductor quantum dot/albumin complex is a long-life and highly photostable endosome marker, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 302 (3): 496-501.
- Hansen, T. et al. (2006): Nanoparticle toxicity tested, www.rsc.org/chemistryworld/News/2006/August/15080602.asp.
- Helbig, G. (2005): Bekanntmachung von Richtlinien zur Förderung von Forschungs- und Entwicklungsvorhaben im Rahmen der Leitinnovation „NanoforLive“, Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF), Januar 2005.
- Helland, A. (2004): Nanoparticles: a closer look at the risks to human health and the environment, The International Institute for Industrial Environmental Economics, Lund, Sweden, October 2004, <http://www.iiiee.lu.se>.
- Helland, A. et al. (2007): Reviewing the Environmental and Human Health Knowledge Base of Carbon Nanotubes, *Environmental Health Perspective* 115(8): 1125-1131.
- HMG – HM Government (2005): Characterising the potential risks posed by engineered nanoparticles, A first UK Government research report, www.defra.gov.uk.
- Hoet, P. H. M. et al. (2004): Nanoparticles – known and unknown health risks, *J. Nanotechnology* 2: 12. Published online: 2004 December 8. doi: 10.1186/1477-3155-2-12.
- Hoet, P. H. M. (2006): Possible health impact of nanomaterials, In: *Nanotechnologies for the Life Sciences Volume 5, Nanomaterials-Toxicity, health and environmental issues*, Kumar, C. (Hrsg.), Wiley-VCH Verlag, Weinheim, S. 53-80.
- Höhr, D. et al. (2002): The surface area rather than the surface coating determines the acute inflammatory response after instillation of fine and ultrafine TiO₂ in the rat, *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 2054: 239-244.
- Horn, H. und Kühling, W. (2007): Für einen verantwortungsvollen Umgang mit der Nanotechnologie, Hrsg.: Bund für Umwelt und Naturschutz Deutschland e. V. (BUND), BUNDpositionen Nr. 43, Mai 2007.
- Hoshino, A. et al. (2004a): Physicochemical properties and cellular toxicity of nanocrystal quantum dots depend on their surface modification, *Nano. Lett.* 4 (11), 2163-2169.
- Hoshino, A. et al. (2004b): Applications of T-lymphoma labeled with fluorescent quantum dots to cell tracing markers in mouse body, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 314: 46-53.
- Huczko, A. et al. (2001): Physiological testing of carbon nanotubes: are they asbestos-like?, *Fullerene Sci. Technol.* 9: 251-254.
- Hussain, S. M. et al. (2005): in vitro toxicity of nanoparticles in BRL 3A rat liver cells, *Toxicology in vitro* 19 (7): 975-983.
- Jaiswal, J. K. (2003): Long-term multiple color imaging of live cells using quantum dot bioconjugates, *nat. Biotechnol.* 21: 47-51.
- Jia, G. W. et al. (2005): Cytotoxicity of carbon nanomaterials: single-wall nanotube, multi-wall nanotube and fullerene, *Environmental Science & Technology* 39 (5): 1378-83.
- Kagan, V. E. et al. (2006): Direct and indirect effects of single walled carbon nanotubes on RAW 264.7 macrophages: Role of iron, *Toxicology Letters* 165: 88-100.
- Kahan, D. M. et al. (2007): *Nanotechnology Risk Perceptions: The Influence of Affect and Values*; Woodrow Wilson International Center for Scholars, March 2007.
- Kamat, J. P. et al. (1998): Oxidative damage induced by the fullerene C₆₀ on photosensitization in rat liver microsomes, *Chemico-Biological Interactions* 114: 145-159.

- Kandlikar, M. et al. (2007): Health risk assessment for nanoparticles: A case for using expert judgement, *Journal of Nanoparticle Research*, 9: 137-156.
- Kappos, A. et al. (2003): Bewertung des aktuellen wissenschaftlichen Kenntnisstandes zur gesundheitlichen Wirkung von Partikeln in der Luft, Statusbericht der Arbeitsgruppe „Wirkungen von Feinstaub auf die menschliche Gesundheit“ der Kommission Reinhaltung der Luft im VDI und DIN, im Auftrag des Bundesministeriums für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit; *Umweltmed Forsch Prax* 8 (5) 257-278.
- Karluss, T. und Sayre, P. (2005): Research strategies for safety evaluation of nanomaterials, Part I: Evaluating the human health implications of exposure to nanoscale materials, *Toxicological Sciences*, 87 (2): 316-321.
- Kern, K. et al. (2004): Nanonoxen: Nanoparticle uptake, transport and toxicity, *Signal Transduction* 3-4: 149.
- Kirchner, C. et al. (2004): Cytotoxicity of Colloidal CdSe and CdSe/ZnS Nanoparticles, *Nano Letters* 2005, Vol. 5, No.2, 331-338
- Kirchner, C. et al. (2005): Cytotoxicity of nanoparticle-loaded polymer capsules, *Talanta* 67: 486-491.
- Kleiner, K. und J. Hogan (2003): How safe is nanotech?, *New Scientist*: 14-15.
- Kommission der Europäischen Gemeinschaften, Mitteilung der Kommission an den Rat, das Europäische Parlament und den Europäischen Wirtschafts- und Sozialausschuss, Nanowissenschaften und Nanotechnologien: Aktionsplan für Europa 2005-2009. Erster Durchführungsbericht 2005-2007, 13090/07, RECH 244, COMPET 251, Brüssel, Sept. 2007
- Krotz, D. et al. (2006), www.lbl.gov/Science-Articles/LSD-quantum-dots.html.
- Krug, H. F. et al. (2004): Toxikologische Aspekte der Nanotechnologie, Versuch einer Abwägung, *Technikfolgenabschätzung – Theorie und Praxis* 2: 558-64.
- Krug, H. F. (2005a): Auswirkungen nanotechnologischer Entwicklungen auf die Umwelt, *Z. Umweltchem. Ökotox.* 17 (4): 223 – 230.
- Krug, H. F. (2005b): Biological effects of synthetic nanoparticles, In: Stakeholder-Dialog – Synthetische Nanopartikel, Hrsg.: BMU, UBA, BAuA und iku GmbH, Dokumentation „Dialog zur Bewertung von synthetischen Nanopartikeln in Arbeits- und Umweltbereichen“, S. 15, 11. und 12. Oktober 2005 im Bundesumweltministerium, Bonn.
- Krug, N. (2006a): Mechanismen ultrafeiner Partikel – Pulmonale und kardiovaskuläre Wirkungen, *Medical Special* 2: 8-9.
- Krug, H. (2006b): Diskussion zum Thema "Risiken der Nanotechnologie" bleibt aktuell, *UWSF – Z Umweltchem Ökotox* 18 (1) 66, ecomed verlag (Verlagsgruppe Hüthig Jehle Rehm GmbH), D-86899 Landsberg und Tokio, Mumbai, Seoul, Melbourne, Paris.
- Krug, H. F. et al. (2006c): Toxicity of nanomaterials- New carbon conformations and metal oxides, In: *Nanotechnologies for the Life Sciences Volume 5, Nanomaterials-Toxicity, health and environmental issues*, Kumar, C. (Hrsg.), Wiley-VCH Verlag, Weinheim, S. 153-185.
- Krug, H. F. und T. Fleischer (2007): Nanotechnologie – eine Bestandsaufnahme, *umwelt: medizin: gesellschaft* I 20 I 1/2007, S. 44-50.
- Kuo, J. S. et al. (2004): mechanism of cell death induced by cationic dendrimers in RWA 264.7 murine macrophage-like cells, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 57: 489-495.
- LAI (1992): Krebsrisiko durch Luftverunreinigungen, Bericht des Länderausschusses für Immissionsschutz, Hrsg.: Ministerium für Umwelt, Raumordnung und Landwirtschaft des Landes Nordrhein-Westfalen, Düsseldorf.
- Lam, C. W. et al. (2004): Pulmonary toxicity of single-wall carbon nanotubes in mice 7 and 90 days after intratracheal instillation, *Toxicol. Sci.* 77 (1), 126-134.
- Lam, C. W. et al. (2006): A review of carbon nanotube toxicity and assessment of potential occupational and environmental health risks, *Toxicology*, 36: 189-217.
- Larson, D. R. et al. (2003): Water-soluble quantum dots for multiphoton fluorescence imaging in vivo, *Science* 300 (5624): 1434-1436.
- Lesniak, W. et al. (2005): Silver/Dendrimer nanocomposites as biomarkers: Fabrication, characterization, in vitro toxicity, and intracellular detection, *Nano Lett.*, Vol. 5, No. 11: 2123-2130.
- Leykauf, M. (2004): Presseinformation: EU-Projekt Nanosafe, Aktuelle Analyse zu Chancen und Risiken von Nanopartikeln, nanogate, Nano 2004, http://www.dechema.net/data/dechemaneu_/Presse/PM%20Nanosafe-deu.pdf.
- Levi, N. et al. (2006): C60-Fullerenes: detection of intracellular photoluminescence and lack of cytotoxic effects, *Journal of Nanobiotechnology*, 4: 14.

- Li, Z. et al. (2005): Pulmonary exposure to carbon nanotubes induces vascular toxicity, *The Toxicologist*, An Official journal of the Society of Toxicology, 84 (S-1).
- Li, Z. J. et al. (2006): Relationship between pulmonary exposure to multiple doses of single wall carbon nanotubes and atherosclerosis in ApoE -/- mouse model, *The Toxicologist*, Supplement to Toxicological Science, 90 (1).
- Li, J.-G. et al. (2007): Comparative Study of Pathological Lesions Induced by Multiwalled Carbon Nanotubes in Lungs of Mice by Intratracheal Instillation and Inhalation, *Inc. Environmental Toxicology* 22: 415-421.
- Linkov, I. et al. (2007): Multi-criteria decision analysis and environmental risk assessment for nanomaterials, *Journal of Nanoparticle Research* 9: 543-554.
- Löchtefeld, S. (2005): Synthetische Nanopartikel – Blick auf Umwelt- und Gesundheitsaspekte, iku GmbH, Dortmund, im Auftrag des Umweltbundesamtes, Umweltforschungsplan des Bundesministeriums für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit, Förderkennzeichen (UFOPLAN) 20561220, August 2005.
- Lovric, J. et al. (2005): Differences in subcellular distribution and toxicity of green and red emitting CdTe quantum dots, *J. Mol. Med.* 83 (5): 377-385.
- Luther, W. et al. (2004): Industrial application of nanomaterials – chances and risks. Technology analysis. Düsseldorf, Future Technologies Division of VDI Technologiezentrum GmbH.
- Magrez, A. (2006): Cellular toxicity of carbon-based nanomaterials, *Nano Letters*, Vol. 6, No. 6: 1121-1125.
- Manna, S. K. et al. (2005): Single-Walled Carbon Nanotube induces oxidative stress and activates nuclear transcription factor- κ B in human keratinocytes, *Nano Letters* 5 (9): 1676-1684.
- Märkel, K. et al. (2006): Nanotechnologie – Fortschritt mit Risiken? Abstract, Fortbildung für den Öffentlichen Gesundheitsdienst, Gemeinsame Veranstaltung des Robert Koch-Instituts, Umweltbundesamtes, Bundesinstitut für Risikobewertung, Berlin, 22. bis 24. März 2006.
- Maynard, A. D. et al. (2004): Exposure to carbon nanotube material: Aerosol release during the handling of unrefined single-walled carbon nanotube material, *J. Toxicol. Environ. Health Part A* 67 (1): 87-107.
- Maynard, A. D. und Kuempel, E. D. (2005): Airborne nanostructured particles and occupational health, *Journal of Nanoparticle Research*, 7: 587-614.
- Meili, C. et al. (2007): Synthetische Nanomaterialien. Risikobeurteilung und Risikomanagement. Grundlagenbericht zum Aktionsplan. Umwelt-Wissen Nr. 0721. Bundesamt für Umwelt und Bundesamt für Gesundheit, Bern. 284 S.
- Memisoglu-Bilensoy, E. et al. (2006): Cytotoxic evaluation of injectable cyclodextrin nanoparticles, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 58: 585-589.
- Merenyi, S. et al. (2007): Regulierung von Nanomaterialien im geltenden und künftigen Chemikalienrecht – Analyse und Gestaltungsoptionen, *Stoff* 2: 50-61.
- Monteiro-Riviere, N. A. et al. (2005): Multi-walled carbon nanotubes interactions with human epidermal keratinocytes, *Toxicology Letters* 155 (3): 377 – 384.
- Moshhammer, H. und Wallner, P. (2007): Gesundheitsrisiken durch Nanopartikel?, *umwelt-medizin-gesellschaft*, 20, 3/2007: 198-204.
- Muller, J. et al. (2005): Respiratory toxicity of multi-wall carbon nanotubes, *Toxicology and Applied Pharmacology* 207 (3): 221-231.
- Murr, L. E. et al. (2004a): Carbon nanotubes, nanocrystal forms and complex nanoparticle aggregates in common fuel-gas combustion source and ambient air, *J. Nanoparticle Res.* 5: 1.
- Murr, L. E. et al. (2004b): Carbon nanotubes and nanocrystals in methane combustion and the environmental implications, *J. Mater. Sci.* 39: 2199.
- Murr, L. E. et al. (2005): Cytotoxicity assessment of some carbon nanotubes and related carbon nanoparticle aggregates and the implications for anthropogenic carbon nanotube aggregates in the environment, *Int. J. Environ. Res. Pub. Health* 2 (1):31-42.
- Murr, L. E. et al. (2006): Combustion-generated nanoparticulates in the EL Paso, TX, USA / Juarez, Mexico Metropex: Their comparative characterization and potential for adverse health effects, *Int. J. Environ. Res. Public Health*; 3(1): 48-66.
- NanoCare: <http://www.nanopartikel.info/nanopart.html>
- Nano-Health (2006): Nano-structured materials for drug targeting, release and imaging, <http://www.bionanonet.at/projekte/Nano-Health/Projektinformation Nanohealth dt.h.>
- Nel, A. et al. (2006): Toxic potential of materials at the nanolevel, *Science*, Vol. 311: 622-627.

- Nigavekar, S. S. et al. (2004): ^3H dendrimer nanoparticle organ/tumor distribution, *Pharmaceutical Research*, Vol. 21, No. 3: 476-483.
- Nowack, B. und Bucheli, T. D. (2007): Occurrence, behaviour and effects of nanoparticles in the environment, *Environmental Pollution* 150: 5-22.
- Oberdörster, G. et al. (1994): Correlation between particle size, in vivo particle persistence and lung injury, *Environmental Health Perspective*, 102 (Suppl. 5), 173-179
- Oberdörster, G. et al. (2000): Acute pulmonary effects of ultrafine particles in rats and mice, *Res. Rep. Health Eff. Inst.*, 96, 5-74
- Oberdörster, G. et al. (2004): Translocation of inhaled ultrafine particles to the brain, *Inhal. Toxicol.* 16 (6/7): 437-445.
- Oberdörster, E. (2004): Manufactured nanomaterials (fullerenes, C60) induce oxidative stress in brain of juvenile largemouth bass, *Environ. Health Perspec.* 112: 1058-1062.
- Oberdörster, G. et al. (2005a): Nanotoxicology: An emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles, *Environ. Health Persp.* 113 (7), 823 – 839.
- Oberdörster, G. et al. (2005b): Principles for characterizing the potential human health effects from exposure to nanomaterials: elements of a screening strategy, *Particle and Fibre Toxicology*. Also available from: <http://www.particleandfibretoxicology.com/content/2/1/8>.
- Öko-Institut (2006): Rechtsgutachten Nano-Technologien – ReNaTe, Bestehender Rechtsrahmen, Regulierungsbedarf sowie Regulierungsmöglichkeiten auf europäischer und nationaler Ebene, erstellt aus Mitteln des Bundesministeriums für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit für das Umweltbundesamt – FKZ 363 01 108
- Owen, R. und R. Handy (2007): Formulating the Problems for Environmental Risk Assessment of Nanomaterials, *Environmental Science & Technology*, S. 5582-5588.
- Peter (2004): Umwelt- und Gesundheitsrisiken nanotechnologischer Applikationen, ETH, Eidgenössische Technische Hochschule Zürich, Semesterarbeit, September 2005.
- Plitzko, S. und Gierke, E. (2007): Tätigkeiten mit Nanomaterialien in Deutschland, *Gefahrstoffe – Reinhaltung der Luft*, Nr. 10 – Oktober: 419-424.
- Pulskamp, K. et al. (2007): Carbon nanotubes show no sign of acute toxicity but induce intracellular reactive oxygen species in dependence on contaminants, *Toxicology Letters* 168: 58-74.
- Radomski, A. et al. (2005): Nanoparticle-induced platelet aggregation and vascular thrombosis, *British Journal of Pharmacology*, 146: 882-893.
- Rajagopalan, P. et al. (1996): Pharmacokinetics of a Water-soluble Fullerene in Rats, *Antimicrobial Agents And Chemotherapy*, 40 (10): 2262-2265.
- Rancan, F. et al. (2002): Cytotoxicity and photocytotoxicity of a dendritic C₆₀ mono-adduct and a malonic acid C₆₀ tris adduct on Jurkat cells, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 67: 157-162.
- Rehn, B. et al. (2003): Investigations on the inflammatory and genotoxic lung effects of two types of titanium dioxide: untreated and surface treated, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 189: 854-954.
- Rehor, A. et al. (2004): Oxidation-sensitive polymeric nanoparticles, *Langmuir* 21: 411-417.
- The Royal Society, The Royal Academy of Engineering (Hrsg.) (2004), *Nanoscience and nanotechnologies: opportunities and uncertainties*, <http://www.nanotec.org.uk/finalReport.htm>.
- Salomon, M. (2006): Dialog zur Bewertung von synthetischen Nanopartikeln in Arbeits- und Umweltbereichen, *Umweltmed. Forsch. Prax.* 11 (1): 51-52.
- Sato, Y. et al. (2005): Influence of length on cytotoxicity of multi-walled carbon nanotubes against human acute monocytic leukemia cell line THP-1 in vitro and subcutaneous of rats in vivo, *Molecular BioSystems* 1: 176-182.
- Sayes, C. et al. (2004): The differential cytotoxicity of water-soluble fullerenes, *Nano. Lett.* 4: 181-1887.
- Sayes, C. et al. (2005): Nano-C₆₀ cytotoxicity is due to lipid peroxidation, *Biomaterials* 26: 7587-7595.
- Sayes, C. M. et al. (2006): Functionalization density dependence of single-walled carbon nanotubes cytotoxicity in vitro, *Toxicology Letters*, Feb. 20; 161/2, 135-142.
- SCENIHR (Scientific Committee on Emerging and Newly-Identified Health Risks), 29 März 2007, The appropriateness of the risk assessment methodology in accordance with the Technical Guidance Documents for new and existing substances for assessing the risk of nanomaterials.
- Schäffler, F. (2004): Neue Forschungsprogramme für den NanoScienc/Technology-Schwerpunkt, *Forschungsmedienservice (fms)*, Ausgabe 4/2004, http://www.zv.uni-linz.ac.at/WISSENST/FMS%2004/fms_4_04.htm.

- Schrand, A. M. et al. (2006): Are diamond nanoparticles cytotoxic, *J. Phys. Chem. B.*, Vol. 111, No. 1: 2-7.
- Schuster, D. I. et al. (1996): Anti-human immunodeficiency virus activity and cytotoxicity of derivated Buckminsterfullerenes, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, Vol. 6, No. 11: 1253-1256.
- Semmler, M. et al. (2004): Long-term clearance kinetics of inhaled ultrafine insoluble iridium particles from the rat lung, including transient translocation into secondary organs, *Inhal. Toxicol.* 16: 453 - 459.
- Semmler-Behnke, M. et al. (2007): Uptake of 1,4 nm versus 18 nm gold nanoparticles in secondary target organs is size dependent in control and pregnant rats after intratracheal or intravenous application, *EuroNanoForum 2007, Nanotechnology in Industrial Applications, European and International Forum on Nanotechnology*, Düsseldorf (Germany), 19-21 June 2007, S. 102-104.
- Shiohara, A. (2004): On the cytotoxicity of quantum dots, *Microbiol. Immunol.* 48 (9): 669-675.
- Shvedova, A. A. et al. (2004a): Cytotoxic and genotoxic effects of single wall carbon nanotube exposure on human keratinocytes and bronchial epithelial cells (Abstract). In: 227th American Chemical Society National Meeting, 27 March-1 April 2004, Anaheim, CA. Washington, DC: American Chemical Society, IEC 20.
- Shvedova, A. A. et al. (2004b): Exposure of human bronchial cells to carbon nanotubes caused oxidative stress and cytotoxicity. In: *Proceedings of the meeting of the SFRR Europe 2004*; Ioannina, Greece. Philadelphia: Taylor & Francis Group: 91-103.
- Shvedova, A. A. et al. (2005): Unusual inflammatory and fibrogenic pulmonary responses to single-walled carbon nanotubes in mice, *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology* 289 (5): 698-708.
- Singh, R. et al. (2005): Tissue biodistribution and blood clearance rates of intravenously administered carbon nanotubes radiotracers, *PNAS* 103 (9): 3357-3362. Published online: www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0509009103
- Soto, K. F. et al. (2005): Comparative in vitro cytotoxicity assessment of some manufactured nanoparticulate materials characterized by transmission electron microscopy, *Journal of Nanoparticulate Research* 7: 145-169.
- Sweet, L. und Strohm, B. (2006): *Nanotechnology – Life-Cycle Risk management, Human and Ecological Risk assessment*, 12: 528-551.
- TAB Büro für Technikfolgenabschätzung (Hrsg.) (2003): *Nanotechnologie. TAB-Arbeitsberichte Nr. 92*. Berlin: Eigenverlag. (Auch als Bericht des Ausschusses für Bildung, Forschung und Technikfolgenabschätzung des Deutschen Bundestages unter Drucksache 15/2713 veröffentlicht.)
- Takenaka, S. et al. (2001) : Pulmonary and systemic distribution of inhaled ultrafine silver particles in rats, *Environmental Health Perspectives*, Volume 109, Supplement 4: 547-551.
- Tran et al. (2005): A scoping study to identify hazard data needs for addressing the risks presented by nanoparticles and nanotubes, *Institute of Occupational Medicine, Research Report*, December 2005.
- Tsuchiya, T. et al. (1996): Novel harmful effects of [60]fullerene on mouse embryos in vitro and in vivo, *FEBS Letters* 393: 139-145.
- Tsuji, J. S. et al. (2006): Research strategies for safety evaluation of nanomaterials, Part IV: Risk assessment of nanoparticles, *Toxicological sciences* 89 (1): 42-50.
- UBA - Umweltbundesamt (2006): *Nanotechnik: Chancen und Risiken für Mensch und Umwelt, Hintergrundpapier*, August 2006.
- Ueng, T. H. et al. (1997): Suppression of microsomal cytochrome P450-dependent monooxygenase and mitochondrial oxidative phosphorylation by fulleranol, a polyhydroxylated fullerene C₆₀, *Toxicology Letters*, 93: 29-37.
- UFZ (Umweltforschungszentrum) (2006): Nano-Partikel auf dem Prüfstand, *Pressemitteilung vom 29. März 2006*, UFZ – Das Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung, <http://www.ufz.de/index.php?de=7157>.
- Voura, E. B. et al. (2004): Tracking metastatic tumor cell extravasation with quantum dot nanocrystals and fluorescence emission-scanning microscopy, *Nat. Med.* 10: 993-998.
- Wahrheit, D. B. et al. (2004): Comparative pulmonary toxicity assessment of single-wall carbon nanotubes in rats, *Toxicological Sciences* 77: 117-125.
- Wang, H et al. (2004): Biodistribution of carbon single-wall carbon nanotubes in mice. *J Nanosci Nanotech* 4(8): 1019-1023.
- Wang, B. et al. (2005): Status of study on biological and toxicological effects of nanoscale materials, *Science in China Ser. B Chemistry*, Vol. 48 No. 5, 385-394.
- Wang, B. et al. (2007): Acute toxicological impact of nano- and submicro-scaled zinc oxide powder on healthy adult mice, *J. Nanopart. Res.* 10: 263-276.

- Wörle-Knirsch, J. M. et al. (2006): Oops They Did It Again! Carbon Nanotubes Hoax Scientists in Viability Assays, NANO LETTERS Vol. 6, No. 6: 1261-1268.
- Wick, P. et al. (2006): The degree and kind of agglomeration affect carbon nanotube cytotoxicity, Toxicology Letters 168 (2007) 121-131.
- Wiesner, M. R. (2006): In Richtung einer grünen Nanotechnologie, http://www.project-syndicate.org/print_commentary/wiesner1/german.
- Wu, J. Y. et al. (2004): Precision-cut rat liver slices used in studying effect of hydroxyapatite nanoparticles on the rat liver, Chinese Journal of Pharmacology and Toxicology 18 (4): 300-304.
- Xia, T. et al. (2006): Comparison of the abilities of ambient and manufactured nanoparticles to induce cellular toxicity according to an oxidative stress paradigm, Nano Letters, Vol. 6, No. 8: 1794-1807.
- Yamago, S. et al. (1995): In vivo biological behavior of a water-miscible fullerene: ¹⁴C labeling, absorption, distribution, excretion and acute toxicity, Chemistry and Biology (2): 385-389.
- Yamawaki, H. und Iwai, N. (2006) : Cytotoxicity of water-soluble fullerene in vascular endothelial cells, Am. J. Physiol. Cell Physiol. 290: C1495-c1502.
- Yang R. S. H. et al. (2007) : Persistent Tissue Kinetics and Redistribution of Nanoparticles, Quantum Dot 705, in Mice : ICP-MS Quantitative Assessment, Environmental Health Perspectives 115 : 1339-1343.
- Yarris, L. et al. (2006), www.lbl.gov/Science-Articles/Archive/sabl/2006/Jul/01.html.
- Yu, S. und Chow, G. M. (2005) : Synthesis, structural, magnetic, and cytotoxic properties of iron oxide coated iron/iron-carbide nanocomposite particles, Journal of Applied Physics, 98, 114306.
- Zellner, R. et al. (2006): Biological Responses to nanoscale Particles, DFG Priority Programme SPP 1313, May 2005.
- Zhang, T. et al. (2006): Cellular effect of high doses of silica-coated quantum dot profiled with throughput gene expression analysis and high content cellomics measurements, Nano Letters Vol. 6, No. 4: 800-808.
- Zhao, X. et al. (2005): C₆₀ binds to and deforms nucleotides, Biophysical Journal 89: 3856-3862.

Anhang 1: Tabellen zur Toxizität von CNT

Tabelle 5: Ergebnisse zur Toxizität von CNT aus in vivo-Untersuchungen

Modellsystem	Exposition/ Endpunkt	Nanomaterial	Schlüsselergebnis	Quelle
Intratracheale Instillation in Mäusen	0, 0,1 oder 1 mg/100 µl Maus-Serum pro Maus 1 Woche	SWCNT (verunreinigt mit 10 % Nickel und Eisen) Hergestellt mit einer Laser-Methode entwickelt von der Rice University, Texas	Bei geringerer Dosis minimale Gewebereaktionen Bei hoher Dosis mechanische Blockade der oberen Atemwege, weitgestreute auffällige Herde von partikel-beladenen Makrophagen und Riesenzellen und markante Infiltrationen des bronchialen Bindegewebes	<i>Lam und McClusky (2000) nach Lam et al. (2006)</i>
Intratracheale Instillation in Meerschweinchen	25 mg /0,5 ml Salzlösung (TWEEN als Lösungsmittel) pro Meerschweinchen 4 Wochen	CNT haltiger Ruß (verunreinigt mit Kobald und Nickel) Hergestellt mit der „Arc discharge sublimation method“	keine Veränderung der Lungenfunktion keine Abnormalitäten keine Entzündungsreaktionen	<i>Huczko et al. (2001)</i>
Intratracheale Instillation in Meerschweinchen	12,5 mg/ Meerschweinchen (männlich, 200-250g) 90 Tage	NanoLab CNT, Reinheit 80% (Fe-Gehalt <0,01ppm) NanoLab CNT Reinheit 95% (kein Fe) Pyrograf PR-1 Nanofasern (kein Fe) Showa Denko Nanofasern (kein Fe) CVD-CNT Carbon arc CNT	Multifokale Granuloma, Entzündungsreaktion Mit oder ohne milder peribronchialer Fibrose in der alveolaren Septa	<i>Grubek-Jaworska et al. (2006)</i> <i>Huczko et al. (2005) nach Helland et al. (2007)</i>

Modellsystem	Exposition/ Endpunkt	Nanomaterial	Schlüsselergebnis	Quelle
Intratracheale Instillation in Ratten	ca.0,25, ca.1,25 mg/ Ratte BAL („bronchoalveolar lavage“) Bestimmung nach 1,7, 30 und 90 Tagen	SWCNT-Ruß aus einem „laser ablation“ Prozeß (5% Ni- und 5% Co-Verunreinigungen) 1,4 nm Durchmesser, Länge > 1µm in Form von Nanoröhren Strängen mit einem Ø von ca. 30nm	Mechanische Blockade der oberen Atemwege bei hohen Dosen Dosisunabhängige, uneinheitliche, nicht fortschreitende granulomatöse Schäden in der Lunge Vorübergehende inflammatorische Effekte Schädigung der Zellen Formation von multifokalen Granuloma	<i>Warheit et al. (2004)</i>
Intratracheale Instillation in Mäusen	0,1 und 0,5 mg/Maus 7 und 90 Tage	„raw“HiPCO SWCNT (26,9% Fe, 0,78% Ni) Gereinigte „raw“ HiPCO SWCNT (2,14% Fe) „Electric arc SWCNT (0,53% Fe, 25,99% Ni, 5,01% Y)	Dosisabhängige Granuloma im Lungeninterstitium Fibrosen, Nekrosen Schäden unabhängig von der Metall-Kontamination Interstitialie Inflammation SWCNT toxischer als Carbon Black und Quarz	<i>Lam et al. (2004)</i>

Modellsystem	Exposition/ Endpunkt	Nanomaterial	Schlüsselergebnis	Quelle
Intratracheale Instillation in Ratten	0,5, 2 und 5 mg/Ratte Nach 3 und 15 Tage Untersuchungen zur Inflammation, nach 1 Stunde, 28 und 60 Tagen Untersuchungen zur Biopersistenz, nach 60 Tagen Untersuchungen zu Fibrosen	Zwei Arten von MWCNT: „Ground-CNT“ und unbehandelte MWCNT, beide mit ca. 15 Wandschichten Verunreinigung von 0,95% Co, synthetisiert beim Zerfall von Ethylen auf einer Aluminium-Unterlage aufgepulvert mit einer Co-Fe-Katalysator-Mischung Außendurchmesser 11,3 nm für „Ground“ und 9,7nm für unbehandelte CNT Länge 0.7µm für „Ground“ und 5,9µm für unbehandelte CNT Oberfläche 307 m ² /g für „Ground“ und 378 m ² /g für unbehandelte CNT	MWCNT nach 60 Tagen in der Lunge zu finden Dosis abhängige Inflammationen Fibrotische Reaktionen MWCNT Agglomeration in den Atemwegen TNFα-Stimulation Induzierung der Überproduktion des TNFα von Makrophagen für „Ground-CNT“ in vitro	Müller et al. (2005)
Intrapharyngeale Aspiration bei Mäusen	0, 10, 20 und 40 µg/Maus 1, 3, 7, 28 und 60 Tage	HiPCO SWCNT (mit einer Verunreinigung von 0,23 % Fe) Durchmesser 1-4 nm Oberfläche 1040 m ² /g	Dosis abhängige Inflammation Progressive Fibrose Granulomas und Verdickung der alveolaren Wand Dosisabhängiger Anstieg der Marker für Entzündungsreaktionen, oxidativen Stress und zytotoxische Effekte	Shvedova et al. (2005)
Mäuse	Keine Angabe	CNT	Inflammation, Granuloma Höhere pulmonale Toxizität als feinskaliger Graphit	Tsuji et al. (2006)
Humaner Pflaster-test auf der Haut und Kaninchen Augentest	0,2 ml/Auge 96 Stunden Pflaster-test 24, 48 und 72 Stunden Kaninchenaugentest	Ruß, der CNT von einer Katalysator gepulverten (Co/Ni)Graphit-Anode enthält	Keine Anzeichen einer gesundheitlichen Gefährdung in dermatologischen Tests	Huczko und Lange (2001) nach Helland et al. (2007)

Modellsystem	Exposition/ Endpunkt	Nanomaterial	Schlüsselergebnis	Quelle
Intraperitoneale -, subkutane – und intravenöse Injektion und Magen-Inkubation bei Mäusen	100 µl/Maus (Konzentration: 15 µg ¹²⁵ I-markierte vielfach hydroxylierte SWCNT (sogenannte ¹²⁵ I-SWCNTols) pro ml	„Raw soot arc-charge“ SWCNT, hydroxyliert, gereinigt bis zu einem Kohlenstoffgehalt von 90%, wasserlöslich, Durchmesser 1,4 nm	Verteilung der SWCNTols im ganzen Körper mit Ausnahme des Gehirns Ausscheidung der SWCNTols über den Urin (94%) und die Faeces (6%) innerhalb von 11 Tagen Unwesentliche Einflüsse der Verabreichungsform auf die Verteilung der SWCNT im Körper	Wang et al. (2004)
Injektion in die Schwanzvene von Mäusen	A. Bioverteilung 60 µg/Maus 30 min, 3 h und 24 h B. Urinausscheidung 400 µg/Maus gesammelt über 18 h	Ammonium funktionalisierte-SWCNT: Durchmesser ± 1 nm Länge: 300 -1000 nm Ammonium funktionalisierte-MWCNT (94 % rein): Durchmesser: 20 – 30 nm Länge: 0,5 – 2 µm	Schnelle Ausscheidung von intakten CNT (funktionalisierte SWCNT und MWCNT) vom Blut über den Urin (in 3 Stunden) Eine Akkumulation in den Organen konnte nicht beobachtet werden	Singh et al. (2006)
Subkutane Implantation in Ratten	0,1 mg/Ratte 4 Wochen	CVD-MWCNT (Reinheit: ca. 80 wt%, Verunreinigungen: amorpher Kohlenstoff, Fe, Mo, Cr und Al) Durchmesser: 20 - 40 nm Proben hatten 2 verschiedene Längen: 220 nm und 825 nm	Aktivierung von THP-1 Zellen in vitro Inflammatorische Antwort in vivo ausschließlich von 825nm langen MWCNT Keine schweren Entzündungsreaktionen	Sato et al. (2005)

Modellsystem	Exposition/ Endpunkt	Nanomaterial	Schlüsselergebnis	Quelle
Subkutane Implantation in Mäusen	2 mg/Maus 1, 2, 3 Wochen und 1, 2, 3 Monate	CVD-SWCNT Durchmesser: 0,8 – 2,0 nm Fe-Gehalt: 1 - 1,5 wt% CVD-MWCNT Durchmesser: 20-70nm Fe-Gehalt 3 - 5wt% CVD-MWCNT Durchmesser: 50- 150nm Fe-Gehalt < 300ppm Thermische Nach- behandlung bei 2800°C „cup-stacked“CNT hergestellt über die “floating reactant“ Methode Durchmesser: 50-150 nm Fe-Gehalt 1 wt%	Keine Änderung des Körpergewich- tes in den Tieren Nach 1 Woche aktivierten aus- schließlich die SWCNT die größte- re Histokompatibili- tät Komplex (MHC) Klasse I Leitungs- bahn des Antigen- Antikörper Antwort Systems Nach 2 Wochen aktivierten alle CNT-Typen MHC Klasse II	<i>Koyama et al. (2006) nach Helland et al. (2007)</i>
Pharyngeale Aspiration bei Mäusen	<u>1. Versuch</u> Maus 7, 28 und 60 Tage <u>2. Versuch</u> 20 mg/Maus (Mäu- se hatten erhöhten Cholesteringehalt im Blut) 8 Wochen	CNT/SWCNT	<u>1. Versuch</u> Dosisab- hängige Schäden der DNA <u>2. Versuch</u> Signifikanter An- stieg des Prozent- satzes der Aorta, die mit Plaque ü- berzogen war Signifikanter An- stieg sklerotischer Läsionen der aus dem Aortabogen abgehenden Arterie	<i>Li et al. (2005) und (2006) nach Lam et al. (2006)</i>

Modellsystem	Exposition/ Endpunkt	Nanomaterial	Schlüsselergebnis	Quelle
<p><u>1.Versuch</u> Intratracheale Instillation in Mäusen</p> <p><u>2. Versuch</u> Inhalation mit Mäusen</p>	<p><u>1. Versuch</u> 0,05 mg/Maus</p> <p>8, 16 und 24 Tage</p> <p><u>2. Versuch</u> 0,07 mg für 8 Tage 0,14 mg für 16 Tage 0,21 mg für 24 Tage</p>	<p>MWCNT : Durchmesser von 50 nm Länge von 10 µm Reinheit von 95 % 0,2 wt% La und Ni Suspendiert in steriler 0,9 %iger Salzlösung mit 1 % Tween-80 (0,5ml/ml)</p>	<p><u>1.Versuch</u> „Klumpen“ unterschiedlicher Größe und Morphologie in den Bronchien (Aggregate von MWCNT) nach 8 und 16 Tagen</p> <p>„Klumpen“ auf der auskleidenden Wand der Bronchien</p> <p>Entzündungen der auskleidenden Wand nach 24 Tagen</p> <p><u>2.Versuch</u> Aggregationen in den Alveolen kleiner als in den Bronchien</p> <p>Moderate Zellteilungen und Verdickung der alveolaren Wände</p> <p>Generell Erhalt der alveolaren Struktur</p>	<p><i>Li et al. (2007)</i></p>

Tabelle 6: Ergebnisse zur Toxikologie von CNT aus in vitro-Untersuchungen

Modell-System	Exposition/ Endpunkt	Nanomaterial	Schlüsselergebnisse	Quelle
Lunge				
<p>Murine Makrophagen</p> <p>Zelllinie J 774</p> <p>Humane Makrophagen</p>	<p>15, 30 und 60 µg/ml</p> <p>24, 48 und 72 h</p>	<p>„reine“ SWCNT</p> <p>„nicht reine“ SWCNT</p> <p>C₆₀</p> <p>Synthetischer Graphit</p>	<p>Induktion von Apoptose, Zelltod oder Stoffwechseländerungen in einem geringeren Prozentsatz von Zellen bei C₆₀ Fullerenen und „reinen“ SWCNT als bei Graphitpartikeln und „nicht reinen“ SWCNT</p> <p>Aktivierung von Makrophagenzellen in einem geringeren Ausmaß von C₆₀ Fullerenen und „reinen“ SWCNT</p>	<p><i>Fiorito et al. (2006)</i></p>

Modell-System	Exposition/ Endpunkt	Nanomaterial	Schlüsselergebnisse	Quelle
Humane Keratinozyten (HaCaT) Epithel-Zellen (HeLa) Humane Lungenkarzinom-Zellen	0,1 mL 72 h 10 µg/mL 30 min Verschiedene SWCNT-Konzentrationen 12 h	SWCNT gelöst in DMF	Induktion von Oxidativem Stress und Hemmung der Zellteilung in den Keratinozyten Zytotoxisch für alle Zelllinien Aktivierung von NF-κB in den Keratinozyten	<i>Manna et al. (2005)</i>
RAW 246.7 Makrophagen von Mäusen	0.12 mg/ml 1 – 2 h bei 37°C	SWCNT gereinigt (Fe-Gehalt von 0,23 wt%) SWCNT Rohmaterial (Fe-Gehalt von 26,0 wt%) Nach Ultraschallbehandlung liegen hauptsächlich gut disperse getrennte SWCNT-Fasern vor	Weder gereinigte noch unbehandelte SWCNT generierten superoxidierte Radikale oder NO Aktivierte RAW Makrophagen generierten hydroxylierte Radikale effektiver nach der Behandlung mit den ungereinigten SWCNT	<i>Kagan et al. (2006)</i>
Makrophagische Zelllinien der Maus (RAW 267.9)	10 µg/ml und 11 Doppel-Verdünnungsreihen 2 Tage, 1 und 2 Wochen	Rosseter MWCNT-Aggregate suspendiert in DMSO	Signifikante Toxizität nach 2 Tagen und 2 Wochen	<i>Murr et al. (2006)</i>
Alveolare Makrophagen von Meer-schwein-chen	1,41 – 28,25 µg/cm ² Zellkultur 3, 6 und 12 h	C ₆₀ , SWCNT und MWCNT wurden im Zellkultur-Medium über Beschallung und Homogenisierung suspendiert Keine freien Tubes, Bündel von 10 – 100 SWCNT Bündel von 4 bis 6 MWCNT	Zytotoxizität gestaffelt (gleiche Massen-Basis): SWCNT>MWCNT>Quarz>C ₆₀	<i>Jia et al. (2005)</i> nach <i>Helland et al. (2007)</i>
RAW 267.9 Murine (Lungen) alveolare Makrophagen-Zelllinie	Start 10 mg/ml mit 11 Verdopplungs-Verdünnungen 48 h	SWCNT-Pulver gemischt mit „robes“/Bündeln, enthält Eisenkatalysator MWCNT Pulver-Gemisch (50% Tubes) MWCNT aggregiertes Pulver (85% Tubes)	Die Lebensfähigkeitswerte der Zellen EC ₅₀ liegen alle um 5,5 – 6,0 µg/ml, vergleichbar mit Asbest	<i>Soto et al. (2005)</i>
RAW 267.9 Murine (Lungen) alveolare Makrophagen Zelllinie	Start 10 µg/ml mit 11 Verdopplungs Verdünnungen 48 h	SWCNT-Pulver gemischt mit „robes“/Bündel, enthält Eisenkatalysator MWCNT Pulver-Gemisch (50 % Tubes) MWCNT aggregiertes Pulver (85 % Tubes) CNT analysiert mit TEM und SAED Suspendiert in 5µg/ml DMSO	50 %ige Abnahme der Zelllebensfähigkeit bei 5 µg/ml Tubes Keine Expression von IL-10 oder IL-12	<i>Shvedova et al. (2005)</i>

Modell-System	Exposition/ Endpunkt	Nanomaterial	Schlüsselergebnisse	Quelle
Peritoneale Makrophagen-Kultur der Ratte	20, 50, u. 100 µg/Kulturplatte 6 h, 24 h und 3 Tage	Gemahlene MWCNT (15 Schichten, äußerer Durchmesser 9,7-11,3 nm, Länge 0,7 bis 5,9 µm, Oberfläche 307 bis 378m ² /kg, 0,95% Co Rückstände)	TNFα mRNA steigt nach 6 h TNFα steigt nach 24 h Lactosedehydrogenase-Freisetzung ist dosisabhängig	Müller et al. (2005)
Peritoneale makrophagen-artige Zellen der Maus	0 – 7,3 µg/ml 24 h	SWCNT suspendiert in Pluronic F108	7.3 mg/ml angewandt während einer 24-stündigen linearen Aufnahme Innerhalb 24 h wurden 1,65 µg/ml aufgenommen	Cherukuri et al. (2004) nach Heland et al. (2007)
Humane Mesothelioma Zelllinie MSTO-211H	7,5, 15, 30 µg/ml 3 Tage	„arc-discharged“ SWCNT verschiedener Agglomerationen SWCNT-Bündel von 10-20 Single Tubes gegenüber strickartigen Agglomeraten in µm-Größe	SWCNT-Bündel sind weniger toxisch als SWCNT µm-große Agglomerate (bezogen auf Zellaktivität und Zellteilung)	Wick et al. (2006)
Makrophagen der Ratte (NR 8383) und humane Lungenzellen (A 549)	5, 10, 50 und 100 µg/ml 24-96 h	CNTs von Nanostructured & Amorphous Materials Inc.: Hergestellt mit der Dampf-Depositions-Methode, enthalten noch Metallverunreinigungen: SWCNT (NT-1), und MWCNT (NT-2 und NT-3) CNT-Präparat mit einem reduzierten Metall-Gehalt	Kein CNT-Produkt zeigt Anzeichen für eine akute Zytotoxizität Kein CNT-Produkt induzierte die Entzündungsmediatoren No, TNF-α und IL-8 steigende Tendenz der TNF-α Freisetzung in den Makrophagen bei Untersuchung der Lipopolysaccharid abhängigen Reaktion in beiden Zelltypen zeit- und dosisabhängiger Anstieg der intrazellulären Sauerstoffspezies und Abnahme des Membranpotentials der Mitochondrien nach Zugabe der CNT ohne reduzierten Metallgehalt	Pulskamp et al. (2007)

Modell-System	Exposition/ Endpunkt	Nanomaterial	Schlüsselergebnisse	Quelle
<p>Humane Lungenepithel-ähnliche Zellen (A 549)</p> <p>Alveolare Makrophagen der Ratte (NR8383) Endothel-Zellen (ECV 304)</p>	<p>50 µg/ml</p> <p>24-96 h</p>	<p>SWCNT hergestellt über die Laser-Verdampfungs-Methode Verunreinigungen von ca. 8 wt% Co und Ni oder 2,5 wt% (reduzierter Metallgehalt)</p> <p>(Ermittlung zytotoxischer Effekte nach unterschiedlichen Analyseverfahren)</p>	<p>Ermittlung der Zytotoxizität über das MTT-Verfahren: starker zytotoxischer Effekt</p> <p>Ermittlung der Zytotoxizität über das WST-1-Verfahren: kein zytotoxischer Effekt</p> <p>Die LDH- oder FACS unterstützte mitochondriale Membranpotential-Bestimmung: kein zytotoxischer Effekt</p> <p>Annexin-V/PI-Färbung: kein zytotoxischer Effekt</p>	<p>Wörle-Knirsch et al. (2006)</p>
<p>Lungentumorzellen (H596, H446, Calu 1)</p>	<p>0,002 -0,02 µg/mL</p> <p>0,2 µg/mL</p>	<p>MWCNT: Mittlerer Durchmesser: 20 nm Querschnittsverhältnisse: von 80 bis 90</p> <p>CNF (Kohlenstoffnanofasern): Mittlerer Durchmesser: 150 nm Querschnittsverhältnisse: von 30 bis 40</p>	<p>Größen- und konzentrationsabhängige zelltoxische Effekte für alle Nanomaterialien</p> <p>Erhöhung der Toxizität durch Funktionalisierung der Partikeloberfläche durch Säurebehandlung</p> <p>Stärkste zelltoxische Effekte nach Exposition gegenüber geringen Konzentrationen: CNF weniger toxisch als MWCNT</p> <p>Bei hohen Konzentrationen MWCNT weitaus weniger toxisch als CNF</p> <p>Nach Säurebehandlung der Oberfläche anfügen von Carbonyl-, Carboxyl- und Hydroxylgruppen : deutlicher Anstieg der Toxizität für MWCNT, für CNF moderater Anstieg</p>	<p>Magrez et al. (2006)</p>
Haut				
<p>Humane Haut-Fibroblasten</p>	<p>0,6 u. 0,06 µg/ml für MWCNT</p> <p>24 und 48 h</p>	<p>MWCNT</p>	<p>Bei entsprechender Dosis Anhalten des Zellzyklus und ansteigende Apoptose/Nekrose</p> <p>MWCNT aktivierten: den zellularen Transport, den Metabolismus, die Regulation des Zell-Zyklus und die Stressreaktionsgene</p> <p>Bei hoher Dosis starke Immun- und Entzündungsreaktionen: Induzierung der Interferon und p38/ERK-MAPK-Kaskaden</p>	<p>Ding et al. (2005)</p>

Modell-System	Exposition/ Endpunkt	Nanomaterial	Schlüsselergebnisse	Quelle
Humane Keratinozyten HaCaT	0,1 bis 20 µg/ml 24, 48 u. 72 h	SWCNT gelöst in DMF	Dosisabhängige Aktivierung vom NF-κB bis hin zu der durch Stress ausgelösten Aktivierung von Kinase Anstieg der freien Radikale durch SWCNT Abnahme der Zellaktivität Anstieg der Zellapoptose	<i>Manna et al. (2005)</i>
Humane epidermale Keratinozyten	100, 200 und 400 µg/ml (vergleichsweise hohe Dosen) 2, 4, 6, 8, 12 und 24 h	Chemisch nicht modifizierte MWCNT TEM Analyse	Zeitabhängige Freisetzung von IL-8 Aufnahme von MWCNT in die Vakuolen bis zu einer Länge von 3,6 µm	<i>Monteiro-Riviere et al. (2005)</i>
Humane dermale Fibroblasten	0,2 bis 2000 µg/ml 48 h	SWCNT-Phenyl-SO ₃ H SWCNT-Phenyl-SO ₃ Na SWCNT-Phenyl-(COOH) ₂ SWCNT suspendiert in 1% Pluronic F108 SWCNT-Phenyl-SO ₃ H mit ansteigendem Abbau der Funktionalisierung	Mit ansteigendem Abbau der Seitenwandfunktionalität Abnahme der Zytotoxizität in der SWCNT-Probe Seitenwandfunktionalisierte SWCNT weniger toxisch als oberflächenstabilisierte SWCNT	<i>Sayes et al. (2006)</i>
Keratinozytische epitheliale Zell-Linie HaCaT	60, 120, 240 µg/ml 2, 4, 6, 8 und 18 h	Mit Stickstoff und Perchlorsäure gereinigte SWCNT Suspendiert in „KGM basal medium“	Dosisabhängige Abnahme der Zell-Lebensfähigkeit Oxidativer Stress, „antioxidant depletion“ Morphologische Veränderung der Zellen	<i>Shvedova et al. (2003)</i> nach <i>Helland et al. (2007)</i>
Neuron				
Neuronen des Hippocampus	„Coated glass coverslips“ 3 Tage	Polyethylenimin f-SWCNT Nicht modifizierte MWCNT	SWCNT- PEI unterstützter Neuriten- Auswuchs und Verzweigung	<i>Hu et al. (2005)</i> nach <i>Helland et al. (2007)</i>
Neuronen des Hippocampus	„Coated glass substrate“ 8, 9, 10 Tage	DMF suspendierte MWCNT („coated on glass“ und inkubiert bei 350°C in einer Stickstoff-Atmosphäre)	Wachstum der neuronalen Verbindungen auf einem MWCNT-Gitter wurde von einem signifikanten Anstieg der Netzwerk-Aktivitäten begleitet	<i>Lovat et al. (2005)</i> nach <i>Helland et al. (2007)</i>
Neuronen des Hippocampus	„Coated glass coverslips“ 8, 9,10 Tage	MWCNT	Spontane synaptische Aktivität und „firing of hippocampal neurons“ wurde vom MWCNT-Substrat gesteigert Anzahl der Neuronen und Neuriten pro Zelle wurde nicht beeinflusst	<i>Ni et al. (2005)</i> nach <i>Helland et al. (2007)</i>

Modell-System	Exposition/ Endpunkt	Nanomaterial	Schlüsselergebnisse	Quelle
Neuronen des Hippocampus	„Coated glass coverslips“ 3 Tage	MWCNT-COOH MWCNT-Ethylendiamin MWCNT-Poly-m-Aminobenzen- Sulfon-Säure	Die Verzweigung der Neuriten zeigt den Grad der Abhängigkeit der MWCNT-Beladung in der Reihenfolge: MWCNT - EN > MWCNT - PABS > MWCNT – COOH	<i>Hu et al. (2004)</i> nach <i>Helland et al. (2007)</i>
Diverse				
Humane osteoblastische Zelllinie hFOB 1.19 Humane Fibroblasten-Linie HS-5 Peritoneum-Makrophagen der Maus	Zellen kultiviert auf Polysulfon eingebettete MWCNT 24 h, 48 h und 7 Tage	CVD MWCNT katalysiert mit CoO/MgO mit 2 wt% Co	Keine Abnahme der Lebensfähigkeit in den Fibroblasten und den osteoblastischen Zellen Keine Freisetzung des IL-6 von den Fibroblasten Kein Anstieg von Osteocalcin durch die osteoblastischen Zellen Keine Aktivierung der Makrophagen Keine Bildung von freien Radikalen	<i>Chlopek et al. (2006)</i> nach <i>Helland et al. (2007)</i>
Humane umbilicale Venen-Endothelzellen (HU)	5 cm ² Oberfläche entspricht 0,5 – 0,9 µg/ml 3 Tage	Drei verschiedene doppelt umwandete CNT Co- und W-Katalysatoren	Keine zytotoxischen Effekte in den Proben	<i>Flahaut et al. (2006)</i> nach <i>Helland et al. (2007)</i>
Humane T-Zellen Jurkat und Lymphozyten des peripheren Blutes	40 und 400 µg/ml (entsprechend zu 1 ng/Zelle, 10 ng/Zelle) 24, 48, 72, 96, 120 h	MWCNT mit einer Reinheit von mehr als 95% (Newton, MA, USA) Mit Salpetersäure oxidierte MWCNT (Newton) Carbon black (Cynthiana, KY, USA)	Abtötung von mehr als 80 % der Zellen innerhalb von 5 Tagen durch die oxidierten MWCNT bei hoher Konzentration Abtötung von weniger als 50 % der Zellen durch die unbehandelten MWCNT	<i>Bottini et al. (2006)</i>
Eizellen vom chinesischen Hamster (CHO)	100 µg/ml 3 Tage	SWCNT ummantelt mit Poly(Methyl)Vinyl-Ketone als Rückgrat und ausgestattet mit α-N-Acetylgalactosamin- Resten Unmodifizierte SWCNT	Ummantelte SWCNT waren nicht toxisch Unmodifizierte SWCNT induzierten Zelltod	<i>Chen et al. (2006)</i> nach <i>Helland et al. (2007)</i>

Modell-System	Exposition/ Endpunkt	Nanomaterial	Schlüsselergebnisse	Quelle
Humane Embryo-Nieren- Zellen (HEK293)	0,78 – 200 µg/ml 1, 2 und 5 Tage	SWCNT von „Carbon Nanotechnologies Inc.“ gelöst in 0,5% DMSO	Konzentrations- und zeitabhängige Abnahme der Zellteilung und der Zell-Adhäsion Provozierte Sekretion von 20 – 30kDa Proteinen 25 µg/ml SWCNT inducierten G1-Arrest Zellapoptose „Up-Regulation“ der Zellzyklus assoziierten Gene „Down-Regulation“ der Signal-Transduktion assoziierten Gene und der Adhäsion assoziierten Proteine	<i>Cui et al. 2005</i>
HeLa-Zellen vom Säugetier	1,5 – 2,0 µg/ml 24 h	SWCNT-LC-SPDP SWCNT-PL-PEG mit DNA oder siRNA1 SWCNT-PL-PEG-SS mit DNA 15mer oder siRNA	f-SWCNT transportierten verschiedene biologische Moleküle in lebenden Zellen ohne Krankheitseffekt auf die Lebensfähigkeit und die Teilung der Zelle Vermittlung der Aufnahme über die Endocytose	<i>Kam und Dai (2005) nach Helland et al. (2007)</i>
HeLa-Zellen	2,5 – 5,0 µg/ml 1 – 5 h	Gereinigte Hipco SWCNT Cy3-DNA-SWCNT PL-PEG-FA-SWCNT	Cy3-DNA-SWCNT wurden in die Zellen aufgenommen und um den Kern herum akkumuliert Aufnahme der PL-PEG-FA-SWCNT ausschließlich von den Folsäure Receptor+ Zellen	<i>Kam et al. (2005) nach Helland et al. (2007)</i>
Eizellen des chinesischen Hamsters (CHO)	5 mM Unmittelbare Analyse	Funktionalisierte-SWCNT (mit 2-Aminoethylmethanthiosulfonat) nicht funktionalisierte SWCNT (u-SWCNT)	Hemmung des laufenden Flusses der HCN ₂ -Kanäle Reversible Blockade des Kannals durch u-SWCNT Irreversible Blockade durch f-SWCNT	<i>Chowalla et al. (2005) nach Helland et al. (2007)</i>
Nicht aktivierte Splenozyten der Maus	0,005, 0,05, 0,5 und 5 µg/ml 3Tage	Kationische funktionalisierte SWCNT mit einem spezifischen ODN(OligoDesoxyNucleotid) immun-stimulatorischen CpG-Motiv	keine toxischen Effekte der SWCNT auf die mitogen aktivierten oder nicht aktivierten Maus-Splenocyten	<i>Bianco (2004) nach Helland et al. (2007)</i>

Modell-System	Exposition/ Endpunkt	Nanomaterial	Schlüsselergebnisse	Quelle
Humane promyelozytische Leukämie-Zellen (HL60) Humane T-Zellen Jurkat	10 -200 µg/ml 24 h, 48 h	SWCNT unter Rückfluß in 2,5M HNO ₃ erwärmt und über die „cup-horn sonication“ separiert Carboxylierte SWCNT funktionalisiert mit EDC Fluorescein, EDC Biotin LC-PEO-Amine und „fluoresceinated streptavidin“ Zeta-Potential gemessen	Zeit- (0,05mg/ml über 5h) und konzentrationsabhängige Aufnahme	<i>Kam et al. (2004)</i> nach <i>Helland et al. (2007)</i>
Mammaline HeLa Zellen Eizellen des chinesischen Hamsters (CHO)	2500 µg/ml 1 h – 3 h	Ammonium funktionalisierte SWCNT und Ammonium funktionalisierte MWCNT	Überschreitung der Zellmembran von beiden CNT Nach 1 h Inkubation Epoxidharz fixiert Keine toxischen Effekte wurden beschrieben	<i>Pantarotto et al. (2004)</i> nach <i>Helland et al. (2007)</i>
Eizellen des chinesischen Hamsters (CHO)	Keine Angabe	Mit Schleimstoff nachahmenden Polymeren beschichtete CNT	Nicht toxisch	<i>Yarris et al. (2006)</i>

Anhang 2: Projekte zu gesundheitlichen Wirkungen

Federführend für Forschungen zum Bereich Nanotechnologien ist in Deutschland das Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF). In Tabelle 7 sind vom BMBF und im Rahmen der EU geförderte Leitinnovationen aufgeführt. Auch werden Projekte weiterer Institutionen genannt.

Tabelle 7: Untersuchungsprojekte zu gesundheitlichen Wirkungen durch Nanomaterialien

Bezeichnung	Beginn / Laufzeit	Inhalte
NanoCare (BMBF-Projekt)	1. März 2006 - 2009	<p>Forschungs- und Kommunikationsoffensive zur Schließung von Wissenslücken und Einleitung von Maßnahmen zur Risikoeerkennung und –minimierung von schwerlöslichen nanoskaligen Partikeln (NP).</p> <ul style="list-style-type: none"> - Gegenstand des Projektes: ausschließlich Nanopartikel aus Produktionsprozessen (gezielt hergestellte Nanopartikel) <p>Forschungsthemen:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Entwicklung von Anwendungen und Messmethoden, die eine frühzeitige Bewertung der Auswirkungen von Nanomaterialien auf die Gesundheit insbesondere am Arbeitsplatz und in der Umwelt erlauben - Herstellung oder Modifizierung und Untersuchung neuartiger Partikel zur Abschätzung der Auswirkungen von Nanopartikeln, um als Modell für Vergleiche mit bereits kommerziell genutzten Nanopartikeln zu dienen - Untersuchung chemisch-physikalischer Eigenschaften der Nanopartikel in verschiedenen Testsystemen auf ihre biologische Wirkung - Begleitende Literaturlauswertung zur Erweiterung des Datensatzes - Erstellung einer allgemein nutzbaren Datenbank zu den Wirkungen von Nanopartikeln <p>(NanoCare, Märkel et al. 2006, Krug 2006b)</p>
NanoforLife	ab 2005 / 4 Jahre	<p>Forschungs- und Entwicklungsprojekte zur Förderung des Einsatzes von Nanotechnologien und Nanomaterialforschung auf den Gebieten:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Wirkstofftransport (gezielte Behandlung eines Organs) Implantat- und zellbasierter Regenerativmedizin (optimale Verträglichkeit) - In vivo-Diagnostik/Molekulare Bildgebung: nanopartikeläre Kontrastmittel, die sich nur an kranke Zellen binden, - Frühdiagnostik, Risikoklassifizierung, Therapiekontrolle <p>(Helbig 2005, BMBF 2006).</p>
NanoHealth	März 2005/ 5 Jahre	<p>Verbundprojekt mit dem Ziel, das Leben chronisch Kranker zu erleichtern.</p> <p>Entwicklung eines neuen Transportmediums mittels drei verschiedener Nanopartikel (Lipoproteine, Protamine, Thiomere), welches folgende Funktionen erfüllt:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Bindung von Wirkstoffen und zielgenauer Transport zum Zielorgan - Transparenz und Reproduzierbarkeit der pharmazeutischen Testphasen auch in vivo sowie toxikologische Unbedenklichkeit <p>(Nano-Health 2006)</p>

Bezeichnung	Beginn / Laufzeit	Inhalte
Nanomed	Oktober 2000	<p>Ziele des Projektes:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Oberflächen- und Grenzflächeneigenschaften in Abhängigkeit der Struktur von Nanopartikeln zu erforschen - Untersuchung des Bindungsmechanismus von Nanopartikel an Zellen - Entwicklung verschiedener Produktionswege zur Herstellung von Nanopartikeln mit bestimmter Oberflächenstruktur <p>(Allan 2004)</p>
Nanosafe 1 (5. Europäisches Rahmenprogramm)	2005 abgeschlossen	<p>Inhalt des Endberichtes:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Aufzählung der bekannten Anwendungen und Messtechniken - Aufzählung der verschiedenen Bereiche, die bekannt sein müssen, um ein Risiko abschätzen zu können - Darstellung des Wissensstandes <p>Keine detaillierte Ableitung des Forschungsbedarfs oder konkreter Handlungsempfehlungen</p> <p>Quelle: www.vdi.de/vdi/organisation/schnellauswahl/techno/arbeitsgebiete/zukunft/sub/10803/index.php Schlussreport (vdi Technologiezentrum): www.zukuenftigetechnologien.de/download_tz.php?do=form (Meili et al. 2007)</p>
Nanosafe 2 (6. Europäisches Rahmenmodell)	2005-2009	<p>Ziel:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Entwicklung von Risikoanalyse- und Managementtools für eine sichere industrielle Produktion von Nanopartikeln - Erarbeitung von Verfahren zur Risiko-Bewertung und Handhabung für ausgewählte Nanopartikel als Referenz für die wichtigsten Charakteristika für Nanopartikel allgemein - Veröffentlichung der Ergebnisse mit Hilfe von Datenbanken, Regelwerken und Workshops <p>Inhalt des Subprojektes zu Gesundheitsfragen:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Toxikologie, Bestimmung von Dosis-Wirkungsbeziehungen, Identifizierung von Gefahrenpotentialen - Review über bestehendes Wissen zur Humantoxizität und zur Messung der Toxizität von Nanopartikeln - Entwicklung spezieller Techniken zur Erfassung der Gesundheitseffekte von Nanomaterialien mit dem Fokus auf CNT, ZnO, Carbon Black und SiO₂ (50nm-200nm) <p>Quelle: www.nanosafe.org (Meili et al. 2007)</p>
Nanotechnologie und Gesundheit	2002	<p>Aachener Kompetenzzentrum Medizintechnik (AKM), Institut für Gesundheits- und Sozialforschung Berlin (IGES) u. a. Durchführung von Untersuchungen zu den Auswirkungen von Nanopartikeln im Gesundheitsbereich:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Diagnostik, - Therapie, - Prävention <p>einschließlich Analyse der gesundheitsökonomischen Auswirkungen. (Dietz 2004)</p>

Bezeichnung	Beginn / Laufzeit	Inhalte
INOS (BMBF)	Februar 2006 / 3 Jahre	<p>Aufgaben im Rahmen des Forschungsprojektes INOS (Identifizierung und Bewertung von Gesundheits- und Umweltauswirkungen von technischen nanoskaligen Partikeln):</p> <ul style="list-style-type: none"> - Charakterisierung der Umstände unter denen synthetisch hergestellte Nanoteilchen unerwünschte Wirkungen auf Zellen von Menschen und Fischen hervorrufen - Entwicklung von Methoden, die es erlauben unter Verzicht auf Tierversuche eine Vielzahl von Teilchen unter definierten Bedingungen auf zelluläre Wirkungen (Beeinflussung der Funktion und Lebensfähigkeit von Nerven-, Lungen-, Darm- oder Hautzellen und ob eine Schädigung des Erbgutes oder eine Immunregulation möglich ist) hin zu untersuchen - Darstellung der Ergebnisse in einer frei zugänglichen Datenbank <p>(UFZ 2006)</p>
Dringlichkeitsprogramm der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) „Biological responses to nanoscale particles“	2006	<p>Untersuchung von Prozessen der Interaktionen von synthetischen Nanopartikeln mit biologischen Systemen auf molekularer und zellulärer Basis</p> <p>Teilbereiche:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Herstellung und Charakterisierung von Nanopartikeln - Übergang von Nanopartikeln in und Interaktionen mit der biologischen Umwelt - Einfluss von Nanopartikeln auf grundlegende biologische Funktionen, inklusive <ul style="list-style-type: none"> - Effekte von Nanopartikeln auf zellulären oxidativen Stress und auf die Störung der zellulären Redox-Homöostase. - Einfluss von Nanopartikeln auf redox-sensitive Zellsignalpfade und die Genomunversehrtheit in Verbindung mit zellulären Funktionen und Reaktionen inklusive Hemmung des Zellzyklus, Proliferation und Apoptose <p>(Zellner et al. 2006).</p>
CANAPE (6. Europäisches Rahmenprogramm)	2004-2008	<p>Das Projekt versucht das fundamentale Wissen über Carbon Nano Tubes (CNT) und deren Anwendungen zusammenzutragen. Eine Arbeitsgruppe innerhalb des Projektes (WP6) beschäftigt sich mit dem Thema „Gesundheit“ und versucht unter anderen die</p> <ul style="list-style-type: none"> - Abhängigkeit der Toxizität von der Länge und dem Durchmesser der Nanotubes und die - Abhängigkeit der Toxizität von katalytischen Rückständen herauszufinden. <p>Quelle: www.canapeweb.com (Meili et al. 2007)</p>
UFOPLAN (Umweltforschungsplan des UBA)	2006 (geplant)	<p>Globalansatz "Wirkung von Nanopartikeln auf Umwelt und Gesundheit"</p> <p>Teilprojekte:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Umweltentlastungseffekte durch nanotechnische Verfahren und Produkte - Aus- und Bewertung der für die gesundheitlichen Risiken relevanten Literatur auf dem Gebiet der synthetischen Nanopartikel und ultrafeinen Partikel sowie Fasern - Toxikologische Studie zu Auswirkungen von Nanopartikeln und ihrer Verteilung im Körper <p>(UBA 2006)</p>

Bezeichnung	Beginn / Laufzeit	Inhalte
Nanopathology (6. Europäisches Rahmenprogramm)		Ziel der Untersuchung ist es mit Hilfe von in vivo- und in vitro-Modellen herauszufinden, inwieweit Nanopartikel eine pathogene Rolle in Bezug auf „human cryptogenic diseases“ spielen. Quelle: www.nanopathology.it/paginei/cee.htm (Meili et al. 2007)
Nanotox (6. Europäisches Rahmenprogramm)	2006 abgeschlossen	Es werden nationale und internationale Forschungsprojekte zur Toxizität von Nanopartikeln zusammengefasst, zudem wird eine Datenbank online gestellt, welche spezialisierte Websites und andere Datenbanken zusammenfasst. Im Review werden unter anderem folgende Punkte berücksichtigt: - Effekte auf Menschen inkl. Nebenwirkungen - Tiertoxizität - Mutagenität, Gentoxizität - Pharmakokinetik und Metabolisierung Quelle: www.impart-nanotox.org/impartnanotox (Meili et al. 2007)
Risk Assessment for Particle Exposure (6. Europäische Rahmenprogramm)	2005-2008	Dieses Projekt beinhaltet die Entwicklung von Methoden zur Bewertung von Gefahren durch neue Arten von Partikeln. Das Projekt ist nicht nur auf synthetische Nanopartikel fokussiert, sondern auch auf „combustion engineered particles“ und größere Partikel. Folgende Aspekte werden unter anderem berücksichtigt: - Bestimmung der Toxizität in vivo an Mäusen und in vitro an kultivierten Zellen - Test der Hypothese, dass Partikel Arteriosklerose fördern Quelle: ftp://ftp.cordis.europa.eu/pub/nanotechnology/docs/particle-risk.pdf (Meili et al. 2007)
The National Nanotechnology Initiative NNI (USA)		Ein Ziel unter anderen ist es, die verantwortungsvolle Entwicklung der Nanotechnologie zu unterstützen. Dazu gibt es neben anderen folgende Aktivitäten: - Untersuchung potentieller Gesundheitsrisiken von Nanopartikeln. Sechs Federal Agencies beschäftigen sich mit der Thematik: NIEHS (National Toxicology Program), NIOSH, EPA, DOD, DOE und NSF. NIST entwickelt relevante Standards - Regulierung von auf Nanotechnologie basierenden Produkten durch eine Subgruppe der NSET (Nanotechnology Environmental and Health Implication Working Group (NEHI WG)) - Forschung zum Umweltverhalten von Nanopartikeln und Entwicklung von Techniken zur Einbeziehung des gesamten Lebenszyklus der Nanopartikel Internet: www.nano.gov/html/about/strategicplan2004.html (Meili et al. 2007)
Tracer (BMBF)		Ziel dieses Projektes ist es, entlang einer Wertschöpfungskette (Herstellung – Verarbeitung – Halbzeug – Funktionsmuster) die Biokompatibilität und hier speziell Fragen zur Toxizität von Carbon Nano Tubes und Nanofasern zu untersuchen und zu bewerten. Quelle: www.bmbf.de/de/5915.php (Meili et al. 2007)

Bezeichnung	Beginn / Laufzeit	Inhalte
Nanomateriaux et Securite (NeS) (ECRIN)	seit 2004	ECRIN (European Clinical Research Infrastructure Network) will mit diesem Projekt zur Referenz für Nanopartikel und Gesundheit in Frankreich und im französischen Sprachraum werden. Eine Arbeitsgruppe befasst sich dabei mit der Toxikologie von Nanopartikeln, eine andere mit Aspekten zu Gesellschaft und Umwelt (Reglementierung, Normierung, Terminologie) Quelle: www.nanomateriauxetsecurite.fr/node/124 (Meili et al. 2007)
Nanorisk (EMPA, BAG, BAFU, KTI)	2005-2006	Der Wissensstand über die Sicherheit und die Risiken von Carbon Nano Tubes (CNT) soll aufgezeigt und eine zelltoxische Beurteilung von CNT und deren Wirkungsmechanismen vorgenommen werden. Quelle: www.empa.ch/plugin/template/empa/*/32939/---/l=2 (Meili et al. 2007)
IMPART (6. Europäisches Rahmenprogramm)	2005-2008	Förderung der Zusammenarbeit zwischen bestehenden regionalen, nationalen und internationalen Organisationen im Bereich Gesundheit und Umwelt, mit internationalem Ethik-Aspekt und Sammlung von Literatur zu Nanopartikeln und Gesundheit/Umwelt: Erstellen von Guidelines zur Erarbeitung von Expositionsgrenzwerten, Erstellen einer Broschüre zur Anleitung: „Wie reduziere ich die negativen Einflüsse von Nanopartikeln“ zur Zirkulation unter allen interessierten Stakeholdern Quelle: www.impart-nanotox.org/impartnanotox (Meili et al. 2007)
NANODERM (5. Europäisches Rahmenprogramm)	2005 abgeschlossen	In diesem Projekt wurde Grundlagenforschung zur dermalen Aufnahme von Nanopartikeln betrieben. Es wurden Daten zur Penetration und zu den Auswirkungen von Nanopartikeln in der Haut ermittelt, sowie daraus abgeleitet, Vorsichtsmassnahmen. In vielen Fällen wurde bezüglich der Hautpenetration von nanopartikulären Inhaltsstoffen, z.B. TiO ₂ oder ZnO in Sonnencremes, eher Entwarnung gegeben. Konkrete Projektbeschreibungen oder Publikationen sind nicht erhältlich. Quelle: www.uni-leipzig.de/~nanoderm/index.html (Meili et al. 2007)

Dialog Nanopartikel

Eine gemeinsame Forschungsstrategie wurde von den am "Dialog Nanopartikel" beteiligten Behörden – BAuA, UBA und BfR zur Ermittlung potentieller Umwelt- und Gesundheitsgefahren durch Nanopartikel konzipiert und im August 2006 veröffentlicht (baua 2006).

Dabei wurden die folgenden Projekte und Arbeitsfelder, die der Finanzierung bedürfen, identifiziert:

Exposition und Metrologie mit Unterpunkten wie z.B.

- Firmenbefragung zur Arbeitsplatzexposition und zum Risikomanagement
- Firmenbefragung zum Einsatz der Nanotechnologie bei der Herstellung von Lebensmitteln, Verpackungsmaterialien, kosmetischen Mitteln, Bekleidungstextilien und anderen verbrauchernahen Produkten
- Entwicklung von Methoden zur Bestimmung und Charakterisierung von Nanopartikeln in Lebensmitteln, kosmetischen Mitteln und sonstigen verbrauchernahen Produkten
- Entwicklung von Expositionsszenarien und Lebenszyklusanalysen von Nanopartikeln

- Untersuchung zum Verhalten und Verbleib (Akkumulation, Persistenz) in der Umwelt

Toxikologische und ökotoxikologische Bewertung von Nanopartikeln mit Unterpunkten wie z.B.

- Entwicklung von Methoden zur Bestimmung und Charakterisierung von Nanopartikeln in biologischem Material

Toxikologische Bewertung mit den Unterpunkten

- Entwicklung einer Test- und Bewertungsstrategie
- Bestimmung der Sensitivität und Spezifität von in vitro-Methoden bzw. von Methoden zur Ermittlung von physiko-chemischen Eigenschaften zur Beurteilung der chronischen Toxizität und Kanzerogenität von Stäuben
- Einordnung der Nanopartikel in Kategorien unterschiedlicher Toxizität durch in vitro-Studien und Studien zu PC-Eigenschaften.
- In vivo-Studien mit weit verbreiteten Nanopartikeln zur chronischen Toxizität und cancerogene, mutagene, reproduktionstoxische (CMR) Wirkungen
- Untersuchungen zum Mechanismus der Toxizität und zum Einfluss der Größe der Partikel
- Untersuchungen zur Toxizität von Nanopartikeln an Arbeitsplätzen
- Untersuchungen zur Hautpenetration von Nanopartikeln aus kosmetischen Mitteln und Bedarfsgegenständen
- Untersuchungen zur Resorption, systemischen Verfügbarkeit, Akkumulation und Ausscheidung von Nanopartikeln nach oraler Exposition (Lebensmittel und Lebensmittelverpackungsmaterialien)
- Bewertung der Toxizität von nanopartikulärem Zinkoxid
- Bewertung der Toxizität von nanopartikulärem Siliziumdioxid

Ökotoxikologische Bewertung mit Unterpunkten wie z. B.

- Auswertung durchgeführter Studien im Hinblick auf relevante Endpunkte, Erstellen von Wirkungshypothesen, Identifizierung geeigneter Testsysteme
- Erarbeitung einer Bewertungsstrategie zur Ermittlung des Risikos von Nanopartikeln in der Umwelt

Diskurs Nanotechnologie mit dem Unterpunkt

- Bildung einer ressortübergreifenden Nano-Diskurs-Plattform für Deutschland.

Weitere Beteiligungen des UBA

Das UBA beteiligt sich zum einen am Arbeitskreis "Working Party on Health and Environmental Safety Implications of Manufactured Nanomaterials". Dieser wurde vom "Chemical Committee and Working Party on Chemicals, Pesticides and Biotechnology" der Organisation für wirtschaftliche Zusammenarbeit und Entwicklung (OECD) eingerichtet. Zum anderen ist das UBA beim Arbeitskreis "Responsible Production and Use of Nanomaterials" der DE-CHEMA/VCI vertreten (UBA 2006).

Projekte der USA

Für die USA gibt die US-amerikanische Umweltbehörde EPA einen Überblick über laufende Forschungsprojekte zum Thema Toxikologie nanotechnologischer Anwendungen (EPA 2006). Diese Projekte befassen sich mit der Erforschung von Dosis-Wirkungsbeziehungen für synthetische Nanopartikel, der zellulären Aufnahme und Toxizität von Nanomaterialien, der Rolle der Agglomeration von Partikeln bezüglich ihrer Toxizität u. v. a. m.

Standardisierung und Normung:

Eine wichtige bundesdeutsche Initiative, an der das UBA ebenfalls mitarbeitet (UBA 2006) und die der Normung und Standardisierung von synthetischen Nanopartikeln Rechnung

trägt, startete bereits in 2005 und wurde im Januar 2006 in Berlin im deutschen Institut für Normung fortgeführt. Hier werden Aktivitäten angestoßen und Überlegungen getroffen, wie Materialien und Testverfahren so standardisiert werden können, damit Daten vergleichbar sind. Dies wurde durch Gründung des NMP 817 umgesetzt. Neben der Vergleichbarkeit der Systeme (Normierung und Standardisierung) ist hier auch die Schaffung von Richtlinien zur Herstellung von Referenzmaterial von großer Bedeutung, da dieses bisher nicht zur Verfügung steht (www.nmp.din.de). Die Aktivitäten werden dann in die entsprechende Arbeitsgruppen bei der ISO (International Standardization Organization) eingebracht (Krug 2006b). Die ISO hat ein entsprechendes neues Technical Committee (TC) "Nanotechnologies" mit drei Arbeitsgruppen (WG1 "Terminology and nomenclature", WG2 "Measurement and characterization", WG3 "Health, safety and environment" gegründet (UBA 2006).

Zudem sollten nach Oberdörster et al. (2005a) hinsichtlich der Standardisierung die internationalen Vorhaben ANSI 2004 (www.ansi.org) und ICON 2004 (<http://icon.rice.edu>) besonders erwähnt werden.

Nanowissenschaften und Nanotechnologien: Aktionsplan für Europa 2005-2009

Die Kommission der Europäischen Gemeinschaften berichtet in einem ersten Durchführungsbericht über Ziele und Inhalte des „Aktionsplanes für Europa 2005-2009“ zu Nanowissenschaften und Nanotechnologien (Kommission der Europäischen Gemeinschaften 2007)

- Forschungsarbeiten zu den potentiellen Auswirkungen der Nanotechnologien auf die Gesundheit und die Umwelt wurden unterstützt, wobei der Schwerpunkt auf dem Aufbau von Kapazitäten lag. Rund 28 Mio. EUR aus dem 5. und 6. Forschungsrahmenprogramm (1998-2002 und 2002-2006) wurden für Projekte eingesetzt, die sich ausdrücklich auf Umwelt- und Gesundheitsaspekte von Nanowissenschaften und -technologien konzentrierten. Entsprechende Forschungsarbeiten werden im 7. Forschungsrahmenprogramm erheblich ausgeweitet (Kommission der Europäischen Gemeinschaften 2007).
- Das allgemeine Ziel lautet, die zum frühest möglichen Zeitpunkt erfolgende wissenschaftliche Bewertung potentieller Gesundheits-, Sicherheits- und Umweltrisiken, die mit Werkstoffen und Erzeugnissen auf Basis von Nanotechnologien im Zusammenhang stehen, zu fördern, die Wissenslücken zu schließen und eine Grundlage für die Erfüllung von Regulierungsanforderungen zu schaffen.

Themen in der ersten Aufforderung zur Einreichung von Vorschlägen zum 7. Forschungsrahmenprogramm umfassen u. a.: die Auswirkungen hergestellter Nanopartikel auf die Gesundheit und die Umwelt mit kritischer Prüfung der Daten; eine kommentierte Datenbank zu den Auswirkungen von Nanopartikeln; alternative Strategien für die toxikologische Bewertung von Nanopartikeln, die in der medizinischen Diagnostik verwendet werden.

Das mehrjährige Arbeitsprogramm der gemeinsamen Forschungsstelle konzentriert sich derweil auf die Entwicklung und Harmonisierung von Methoden zur Charakterisierung und die Toxizitätsprüfung von hergestellten Nanowerkstoffen (z. B. Partikelgrößenmessung, Tests einer repräsentativen Reihe von Nanowerkstoffen mit kritischen Zelllinien in vitro); damit zusammenhängende Studien zu Referenzwerkstoffen und Dosimetrie; Studien zur Anwendbarkeit von Berechnungsmethoden zur Bewertung der Eigenschaften von Nanopartikeln, einschließlich der Toxizität; Datenbankentwicklung (Kommission der Europäischen Gemeinschaften 2007).

Eine internationale Zusammenarbeit ist bezüglich verschiedener Sicherheitsaspekte erforderlich, etwa bei der Entwicklung gemeinsamer Nomenklaturen, Normen und Testmethoden, um sicherzustellen, dass die Daten global vergleichbar und die zu Regulierungszwecken eingesetzten Methoden international harmonisiert sind.

Ein hauptsächliches Forum für die Koordinierung von Aktivitäten auf internationaler Ebene wurde von der OECD-Arbeitsgruppe für hergestellte Nanowerkstoffe bereitgestellt (http://www.oecd.org/about/o,3347,en_2649_37015404_1_1_1_1_37465,00.html).

Diese Gruppe verfügt über ein Arbeitsprogramm mit sechs spezifischen Projekten, die unter anderem Folgendes betreffen: Wissenslücken bezüglich der Gesundheits- und Umweltauswirkungen, Datenbanken, Testsysteme, Leitlinien, Methoden zur Risikobewertung und den Austausch von Informationen zu freiwilligen Regelungen und Regulierungsansätzen. Es wird erwartet, dass die Kommission mit Unterstützung ihrer wissenschaftlichen Ausschüsse sowie anderer europäischer Organe weiterhin einen Beitrag zu diesen internationalen Bemühungen leistet.

Ebenso von Bedeutung sind die Aktivitäten im ISO/TC 229 zur Ausarbeitung genormter Methoden und Nomenklaturen, woran die Europäische Kommission und Mitgliedsstaaten bereits aktiv beteiligt sind.

Ein Workshop zur Lebenszyklusbewertung von Erzeugnissen auf Basis der Nanotechnologie im Oktober 2006 wurde gemeinsam organisiert von der Kommission, der US-Umweltschutzbehörde EPA und dem Woodrow Wilson International Centre for Scholars (ftp://ftp.cordis.europa.eu/pub/nanotechnology/docs/lca_nanotechnology_workshopoct2006_proceedings_en.pdf).

Im Juli 2007 leitete die Europäische Kommission eine Konsultation zum Verhaltenskodex ein (siehe [IP/07/1140](#)). Der Kodex entspricht völlig dem zentralen Ziel des Aktionsplans für Nanotechnologien aus dem Jahre 2005 (siehe [IP/07/1321](#)), nämlich der Förderung einer integrierten, sicheren und verantwortungsvollen Vorgehensweise im Bereich der Nanowissenschaften und -technologien. Die 7 Grundsätze lauten:

- Bedeutung
- Nachhaltigkeit
- Vorsorge
- Integration
- Exzellenz
- Innovation
- Verantwortlichkeit

Der Verhaltenskodex enthält ferner Leitlinien für die Umsetzung dieser 7 Grundsätze im Hinblick auf die verantwortungsvolle Regelung der Forschung, die Einhaltung des Vorsorgeprinzips und die Verbreitung des Verhaltenskodex und die Überwachung seiner Anwendung.