

Myrtill Simkó

Warum ist die Frage nach der (Nano-)Dosis so wichtig?

Zusammenfassung

Nach Paracelsus ist jeder Stoff giftig und nur die Dosis macht die Wirkung. Die Frage ist, wie „Dosis“ für Nanomaterialien bzw. für Nanopartikel bestimmt wird. Warum kann die Dosis nicht eindeutig für Nanopartikel errechnet werden? Die Problematik liegt darin, dass Nanopartikel chemisch und physikalisch sehr vielfältig und heterogen sind. Die Entwicklung von einheitlichen Maßeinheiten oder Parametern, die diese Eigenschaften beschreiben und dabei die biologische Wirksamkeit widerspiegeln erscheint eher unwahrscheinlich. Die Berechnung der Dosis von Nanopartikeln ist aber vor allem für die Risikoabschätzung und für die Regulierung von Grenzwerten bzw. für Empfehlungen von großer Bedeutung. Daher gibt dieses Dossier einen Überblick über den Zusammenhang von Exposition, Dosis und Dosis-Wirkung und legt dar, warum diese Kenntnisse notwendig sind und wo Wissenslücken bestehen.

Paracelsus (1493-1541) by T. Apiryon,
© 1995 Ordo Templi Orientis.
<http://hermetic.com/sabazius/paracelsus.htm>



Einleitung

Eine Substanz kann in einem biologischen System schädlich oder gar giftig wirken, wenn sie in genügender Menge oder Konzentration vorliegt (eine genügend hohe Dosis). Der giftige Effekt (Toxizität) erhöht sich durch die Steigerung der Exposition (oder der Dosis). Dieses Phänomen ist schon seit Paracelsus (1493-1541), dem „Vater“ der Toxikologie bekannt, der sagte: *„Alle Ding' sind Gift und nichts ist ohn' Gift; allein die Dosis macht, dass ein Ding kein Gift ist.“* So kann sogar Wasser toxisch wirken, man muss es nur in genügend großer Menge innerhalb kurzer Zeit zu sich nehmen. Neben der Dosis hängt die Wirkung auch davon ab, ob eine entsprechend hohe Dosis auf einmal (akut) oder niedrige Dosen über einen längeren Zeitraum (chronisch) zugeführt werden. Dieses Prinzip ist die Basis für Gesundheitsstandards, die die maximal zulässige Konzentration von Kontaminationen z. B. in Lebensmitteln, im Wasser, in der Umwelt usw. festlegen. So ist die Dosisberechnung in erster Linie für die Risikoabschätzung und für die gesetzliche Regulierung von Relevanz, um z. B. die maximale Arbeitsplatzkonzentration (MAK) von Chemikalien oder Partikeln oder andere Grenzwerte festzulegen, bei denen keine gesundheitlichen Schäden auftreten. Für Nanomaterialien, im speziellen für Nanopartikel, gibt es bis dato keine Grenzwertfestlegung oder andere Formen von dosisbezogener Regulierung, weil die Dosis für Nanopartikel nicht definiert ist. Warum dies nicht der Fall ist wird im vorliegenden Dossier erläutert.

Was ist eigentlich die Dosis?

Meist versteht man unter einer Dosis die definierte Menge eines chemischen Stoffes (in der Pharmakologie eines Medikaments), die eine bestimmte Wirkung auslöst. In der Strahlenkunde versteht man unter einer Dosis die definierte Menge an Energiedosis die ionisierende Strahlen (z. B. Röntgen- oder γ -Strahlen) abgeben. In der Strahlenkunde wird die Dosis mit Hilfe der Dosimetrie berechnet. Entsprechend gibt es schwache, starke, hohe oder tödliche Dosen. Die Festlegung der Dosis in der Pharmakologie bezeichnet man als Dosierung. Für chemische Substanzen gibt es unterschiedliche Möglichkeiten die Dosis anzugeben (siehe Kasten).

Dosis-Wirkungs-Beziehung

Zur Feststellung einer Dosis-Wirkungs-Beziehung werden unterschiedliche Mengen eines Stoffes experimentell auf ihre Wirkung untersucht. Dabei werden die ermittelten Effekte rechnerisch zu den jeweilig verabreichten Mengen des Stoffes in Beziehung gesetzt. So kann man die Konzentration, die einen definierten Effekt auslöst (für die Pharmakologie) oder den Grad der Toxizität ermitteln. Der funktionale Zusammenhang zwischen der Dosis eines Stoffes und dessen Auswirkung auf einen Organismus lässt sich auf diese Weise bestimmen.

Eine Dosis lässt sich auf verschiedene Weise angeben:

- die Menge/Gewicht eines gelösten Stoffes pro Volumen (Konzentration, Gramm pro Liter),
- die Stoffmengenkonzentration einer gelösten Stoffmenge (Anzahl der Atome, zu berechnen über das spezifische Gewicht) pro Volumen (Molarität, Mol pro Liter), oder
- die Anzahl der Teilchendichte oder Partikelkonzentration pro Volumen (Teilchenanzahl pro Liter).

Für viele Chemikalien gibt es eine bekannte Dosis-Wirkungs-Kurve, die die jeweiligen Mengen eines Stoffes, die keinen nachweisbaren bis hin zu maximalem Effekt angibt. Alle chemischen Substanzen weisen bei einer genügend hohen Dosis einen giftigen Effekt auf. Ist die Dosis niedrig genug, tritt keine Wirkung auf. Die toxische Wirkung einer Chemikalie wird folglich durch die Dosis definiert, die eine spezifische Antwort in einem bestimmten biologischen System induziert. Allerdings ist das Verhältnis zwischen Dosis und Wirkung nicht immer linear, d. h. die Hälfte der Dosis hat nicht unbedingt die Hälfte der Wirkung zur Folge. Dieses Verhältnis unterscheidet sich je nach Chemikalie.

Bei einer *toxischen Dosis* (TD) einer Substanz geht man davon aus, dass alle Individuen (bzw. untersuchten Objekte) einen Effekt erleiden. Individuen reagieren aber nicht alle gleich, daher wird die TD₁₀ bestimmt, wobei 10 % der Individuen einen toxischen Effekt erleiden, oder die TD₅₀, wobei 50 % der behandelten Individuen betroffen sind. Eine andere übliche Angabe ist die *letale Dosis* (LD) bzw. LD₅₀, wobei die Exposition den Tod der Hälfte der behandelten Individuen auslöst. Auf Basis dieses Prinzips regulieren die Europäische Chemikalienagentur ECHA (European Chemicals Agency) und nationale zuständige Behörden die zugelassenen Mengen von Chemikalien und ihre Grenzwerte.

Toxikologische Studien

Toxikologische Studien untersuchen das Verhältnis zwischen einer Dosis und den Effekten auf das betreffende lebende System bzw. den Organismus (Zelle oder Tier). Die Dosis wird je nach der Beschaffenheit des toxischen Stoffes ermittelt. Es gibt verschiedene Konzepte der Toxizität (siehe Kasten).

Zentrale Konzepte der Toxikologie sind also die Dosis und die Dosis-Wirkungs-Beziehung. Die Toxizität ist aber auch eine Funktion der effektiven biologischen Dosis. Diese hängt davon ab, wie viel der jeweiligen Substanz das Zielorgan erreicht und wie lang die Substanz am Ziel anwesend ist. Toxikologische Studien untersuchen auch, ob und wie die Substanz das Zielorgan innerhalb des Körpers erreichen kann (Toxikokinetik). Der Weg der Aufnahme von toxischen Substanzen ist ein wichtiger Parameter für die Dosis, denn verschiedene Aufnahmewege (über die Haut, durch Einatmung, über Magen und Darm, durch Injektion) können verschiedene Dosis-Wirkungs-Effekte ergeben. Die Dosis einer Substanz und ihre Toxizität hän-

gen auch davon ab, wie lang die Exposition durch die Substanz besteht. Die Dauer der Aussetzung eines Stoffes kann akut, sub-chronisch, oder chronisch sein. Dementsprechend kann auch die Toxizität akut, sub-chronisch, oder chronisch sein. Exposition und Toxizität sind jedoch nicht automatisch miteinander verbunden, denn eine akute Exposition führt nicht notwendigerweise zu einer akuten Toxizität. So kann z. B. eine einmalige Gabe einer Chemikalie in hoher Konzentration Jahre später zu einem gesundheitsbeeinträchtigenden Effekt führen. Überdies können weitere Faktoren wie Geschlecht, Alter, Körpergewicht, Medikation etc. den Effekt am Zielorgan beeinflussen.

Toxikologie von Nanomaterialien

Partikel im Nanometer-Bereich sind grundsätzlich nicht neu. Derartige Partikel (z. B. als Industrierusse, aber auch aus verschiedenen Kieselsäuren, SiO₂) werden seit langem in größeren Mengen in verschiedenen Bereichen eingesetzt. Die Nanogröße ist dabei eher zufällig als gezielt hergestellt. Andererseits können heute durch gezielte Herstellung sogenannte homodisperse (gleich große) Nanopartikel erzeugt werden, wobei deren Oberfläche modifiziert oder gar mit neuen Strukturen versehen werden kann. Angesichts der Unklarheiten, welche Rolle Form, Oberflächeneigenschaften, Ladung, Beschichtungen etc. für die Toxizität spielen, ist derzeit nur wenig oder gar nichts über die Beziehung zwischen bestimmten Partikeln und ihrem biologischen Verhalten bekannt. Hingegen weiß man, dass z. B. bei industriellen oder natürlichen Verbrennungsvorgängen sogenannte Ultrafeinpartikel (UFP), Ultrafein-

staub oder ultrafeine Aerosole als Nebenprodukte entstehen. Es handelt sich hierbei um heterodisperse (ungleich große) Partikel mit einem Durchmesser um die 100 nm. Die Auswirkungen dieser Stäube sind großteils bekannt, so treten spezifische chemische oder formbedingte (Faserprinzip) Wirkungen auf; durch das lang andauernde Vorhandensein im Organismus (Biopersistenz) granulärer Stäube können auch Entzündungen hervorgerufen werden. Die Wirkmechanismen homodisperser und oberflächenmodifizierter Nanopartikel sind hingegen unbekannt. Es herrscht nicht einmal Klarheit darüber, wie eine Dosis zu definieren sei. Vieles spricht für die Oberflächenreaktivität als Maß für die Dosis, aber wie sollte diese berechnet werden?

Die grundlegenden Prinzipien der Nanotoxikologie werden also verstanden, aber es fehlen oft spezifische Informationen für eine Dosisdefinition und die Bestimmung von Dosis-Wirkungs-Effekten. Da die Anzahl der auf toxikologische Effekte zu prüfenden Nanomaterialien sehr schnell wächst, stellt deren toxikologische Untersuchung eine erhebliche Herausforderung dar¹ oder erscheint gar unrealistisch. Um eine Dosisabschätzung zu ermöglichen und auch um Experimente mit realistischen Dosen durchführen zu können, müssen aber passende Dosis-Maßeinheiten bestimmt werden²⁻⁴.

Es ist allerdings bekannt, dass manche Nanopartikel relevante toxische Effekte verursachen können. Diese Effekte werden in Beziehung zu den physikalischen und chemischen Eigenschaften der Nanopartikel gesetzt (z. B. Größe/Oberfläche, katalytische Eigenschaft, etc.)⁵. Die Toxizität von Nanopartikeln kann sich dabei als größer als die des Ursprungsmaterials erweisen, weil das Verhältnis von Oberfläche zu Volumen für nanoskalige Materialien viel größer ist. Au-

Konzepte der Toxizität

- Die **intrinsic chemische Toxikologie** berücksichtigt die Wirkung löslicher Materialien, Atome oder Ionen, die mit biologischen Systemen wechselwirken, wobei die Masse als metrische Größe/Dosis dient (Molarität oder Konzentration per Einheit).
- Die **Morphologie-abhängige Toxikologie** berücksichtigt faserförmige Substanzen wie z. B. Asbestfasern oder faserartige Zeolithe etc., wobei die Anzahl von Fasern per Einheit als metrische Größe/Dosis dient.
- Die **strahlungsbedingte Toxizität** berücksichtigt die Energie der Strahlung, indem sie die deponierte Energie (Dosis) als Maß verwendet.
- Für den Bereich **Nanotoxikologie** wurde die Oberflächenreaktivität als das wichtigste Maß für die Toxizität vorgeschlagen. Fläche und Oberflächenreaktivität gelten als die wichtigsten Größen für die Dosis. Allerdings ist derzeit noch unklar, ob diese Parameter tatsächlich die wichtigsten sind, denn es ist bekannt, dass auch die Form, die physikalischen und die chemischen Eigenschaften die Toxizität von Nanopartikeln und somit ihre Dosiswirkung beeinflussen.

ßerdem enthalten einige Nanomaterialien Metalle oder andere Substanzen, die ihre toxischen Eigenschaften verändern können. Da Nanopartikel bezüglich ihrer chemischen und physikalischen Eigenschaften sehr heterogen sind, ist es sehr unwahrscheinlich, dass ein einziges Maß oder eine Einheit für die Dosisberechnung ausreicht. Derzeit werden meist die Oberfläche, die Anzahl und die Größe der Partikel angegeben. Die Frage ist, ob diese Angaben genügen, um letztendlich sinnvolle und praktikable Werte für die Gesetzgebung und die Standardisierung zu definieren. Neben der Oberflächenreaktivität, der Form und der Biopersistenz müsste auch die Anreicherung in bestimmten Organen oder Zellen berücksichtigt werden. Auch ist die Frage offen, welche Effekte bestimmt werden sollten, um die Oberflächenreaktivität zu ermitteln. Hier bieten sich unterschiedliche, sogenannte *biologische Endpunkte* an, etwa die Bildung freier Radikale oder die Überlebensfähigkeit bestimmter Zellen in einer Zellkultur.

Wo liegt das Problem?

Exposition und Dosis für Nanopartikel unterscheiden sich dadurch, dass sich die Exposition auf die mögliche Menge (bzw. Fläche oder Zahl der Atome) freier Nanopartikel bezieht, während der Begriff der Dosis die Aufnahme, das Verweilen (Retention) und die biologische Wirksamkeit eines spezifischen Nanopartikels widerspiegelt. Daher sind folgende Informationen für die Dosisberechnung notwendig:

- Exposition: nicht die externe (von außen), sondern die interne Exposition (durch die Menge der aufgenommenen Substanz, siehe oben) ist von Relevanz.
- Eine Einheit die die chemischen und/oder physikalischen Eigenschaften berücksichtigt (Oberfläche, Reaktivität, etc)
- Angaben über die Aufnahmewege (Haut, Einatmung, Magen-Darm, Injektion)
- Angaben über die toxische Wirkung (biologische Effekte)
- Angaben zu Dosis-Wirkungs-Beziehungen
- Angaben über die Aufnahmezeiten (akut, sub-chronisch, chronisch)
- Angaben über die spezifische Anreicherung in einzelnen Organen, Geweben und Zellen
- Angaben zur zell-, gewebs- und organspezifischen Effekten
- Angaben über die Biopersistenz
- weitere Angaben je nach dem jeweiligen Nanopartikel.

Derzeit gibt es nur sehr wenige Befunde, die die gesamte notwendige Information liefern. Leider fehlt auch ein dosimetrisches Konzept, welches eine mehr oder weniger einheitliche Dosisberechnung erlauben würde. Eine einheitliche Berechnungsmethode (Algorithmus) ist wegen der Heterogenität der Nanopartikel und aufgrund fehlender Kenntnisse über ihre Wechselwirkungen mit lebenden Systemen derzeit unrealistisch.

Fazit

Stellen also Nanomaterialien das Paradigma der Toxikologie „Allein die Dosis macht die Wirkung“ (Paracelsus) in Frage? Oder muss nur die Dosis „richtig“ definiert werden, um die Frage mit „Nein“ beantworten zu können? Die Frage bleibt nach wie vor unbeantwortet.

Die Berechnung der Dosis für Nanopartikel wäre in erster Linie für die Risikoabschätzung und für die Festsetzung von Grenzwerten bzw. Erstellung von Empfehlungen von Bedeutung. Aufgrund fehlender Daten können Parameter für die Berechnung der Dosis für Nanopartikel derzeit nicht definiert werden. Um die Wissenslücken mittels gezielter systematischer Untersuchungen zu füllen und um ein realistisches Dosiskonzept für Nanopartikel zu entwickeln, besteht nach wie vor dringender Forschungsbedarf.

Anmerkungen und Literaturhinweise

- ¹ Castranova, V., 2011, Overview of current toxicological knowledge of engineered nanoparticles, *J Occup Environ Med* 53(6 Suppl), S14-7.
- ² Lison, D., Thomassen, L. C., Rabolli, V., Gonzalez, L., Napierska, D., Seo, J. W., Kirsch-Volders, M., Hoet, P., Kirschhock, C. E. und Martens, J. A., 2008, Nominal and effective dosimetry of silica nanoparticles in cytotoxicity assays, *Toxicological Sciences* 104(1), 155-162.
- ³ Warheit, D. B., Hoke, R. A., Finlay, C., Donner, E. M., Reed, K. L. und Sayes, C. M., 2007, Development of a base set of toxicity tests using ultrafine TiO₂ particles as a component of nanoparticle risk management, *Toxicology Letters* 171(3), 99-110.
- ⁴ Rushton, E. K., Jiang, J., Leonard, S. S., Eberly, S., Castranova, V., Biswas, P., Elder, A., Han, X., Gelein, R., Finkelstein, J. und Oberdorster, G., 2010, Concept of assessing nanoparticle hazards considering nanoparticle dosemetric and chemical/biological response metrics, *J Toxicol Environ Health A* 73(5), 445-61.
- ⁵ Borm, P. J., Robbins, D., Haubold, S., Kuhlbusch, T., Fissan, H., Donaldson, K., Schins, R. P., Stone, V., Kreyling, W. G., Lademann, J., Krutmann, J., Warheit, D. B. und Oberdorster, E., 2006, The potential risks of nanomaterials: a review carried out for ECETOC, *Particle and Fibre Toxicology* 3(11).

IMPRESSUM:

Medieninhaber: Österreichische Akademie der Wissenschaften; Juristische Person öffentlichen Rechts (BGBl 569/1921 idF BGBl I 130/2003); Dr. Ignaz Seipel-Platz 2, A-1010 Wien

Herausgeber: Institut für Technikfolgen-Abschätzung (ITA); Strohgasse 45/5, A-1030 Wien;
www.oewaw.ac.at/ita

Erscheinungsweise: Die NanoTrust-Dossiers erscheinen unregelmäßig und dienen der Veröffentlichung der Forschungsergebnisse des Instituts für Technikfolgen-Abschätzung im Rahmen des Projekts NanoTrust. Die Berichte werden ausschließlich über das Internetportal „epub.oewaw.ac.at/ita/nanotrust-dossiers/“ der Öffentlichkeit zur Verfügung gestellt.

NanoTrust-Dossier Nr. 028, Jänner 2012: epub.oewaw.ac.at/ita/nanotrust-dossiers/dossier028.pdf

ISSN: 1998-7293



Dieses Dossier steht unter der Creative Commons (Namensnennung-NichtKommerziell-KeineBearbeitung 2.0 Österreich) Lizenz: creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/2.0/at/deed.de