

## Einleitung

### 1 EINLEITUNG

#### 1.1 Einführung

1972 wurde in der Europäischen Bodencharta festgehalten: Der Boden ist eines der kostbarsten Güter der Menschheit (Europarat, 1972). Trotz aller Bemühungen befinden sich, vor allem durch die Industrialisierung, zahlreiche für Menschen und andere Lebewesen schädliche Stoffe in unseren Böden. Im Zuge des neuen Gesetzesvorschlages der europäischen Union zur Registrierung, Evaluierung und Autorisierung von Chemikalien (REACH) wird derzeit in Europa sehr intensiv über einen neuen Umgang mit Chemikalien diskutiert (EU-Kommission, 2003). Sowohl im Rahmen des REACH-Projektes als auch in der seit mehreren Jahren im Umlauf befindlichen EG-Kosmetikverordnung werden ausdrücklich Alternativmethoden zum Tierversuch gefordert (EU-Kommission, 1993). Bisher sind vor allem zur enteralen Resorption von Schadstoffen aus Bodenproben Versuche durchgeführt worden, zum Beispiel an Minischweinen (Hack A. , 2002). Mit der DIN-Norm 19738 wurde im Jahr 2000 ein Magen-Darm-Modell zur Resorptionsverfügbarkeit als Alternativmethode zum Tierversuch definiert. In der vorliegenden Dissertation wird mit der Beispielsubstanz Cadmium die dermale Resorption von Schadstoffen aus Bodenproben im Modell der isolierten, hämoperfundierten Schweineextremität geprüft.

#### 1.2 Cadmium als Gefahrstoff für den Menschen

##### 1.2.1 Verwendung und Vorkommen von Cadmium

Cadmium, aus der Gruppe IIB des Periodensystems, wurde 1817 von Friedrich Strohmeyer und Carl Herrmann unabhängig voneinander entdeckt. In der Natur kommt es hauptsächlich in Erzen mit Zink, Blei und Kupfer vergesellschaftet vor. Eine natürlich erhöhte Cadmiumbelastung findet sich in Gebieten mit hoher vulkanischer Aktivität. In der Industrie wird Cadmium als Kunststoffstabilisator in PVC-Produkten, als Korrosionsschutz, Farbpigment, Neutronenabsorber in Kernkraftwerken und zur Herstellung von Nickel-Cadmium-Batterien verwendet. Auch durch das Verbrennen und Deponieren von cadmiumhaltigen Abfällen zusammen mit gewöhnlichem Hausmüll gelangt Cadmium in die Umwelt, ebenso durch Phosphatdünger und Klärschlamm, sowie durch Verbrennen von Kohle in Kraftwerken (Jarup, 2003). Auch die Stäube und Abwässer der Metallgewinnung und

## Einleitung

–verarbeitung sind cadmiumhaltig, da dieses oft als Nebenprodukt anfällt. So entstehen bei der Herstellung von einer Tonne Zink etwa 3kg Cadmium. Die weltweite Cadmiumemission beträgt ca. 7000t pro Jahr (Stoeppler, 1991). Die Kommission Human-Biomonitoring des Umweltbundesamtes hat für Nichtraucher (Erwachsene) einen Referenzwert von 1 µg/l Blut für Cadmium festgelegt, für Kinder beträgt der Referenzwert 0,5 µg/l. Im Urin liegen die Referenzwerte bei 0,8 µg/l für nichtrauchende Erwachsene und 0,5 µg/l für Kinder (HBM-Kommission, 2003).

### 1.2.2 Aufnahme von Cadmium durch den Menschen

#### 1.2.2.1 Gastrointestinale und pulmonale Resorption

Die Cadmiumresorption in den menschlichen Körper findet über die Nahrung, über die Atmung und über die Haut statt. Bei Nichtrauchern spielt der enterale Resorptionsweg die größte Rolle. So beträgt die totale tägliche Cadmiumaufnahme durch Nahrungsmittel in Europa und den USA 10-30µg, in Japan wegen der dort vergleichsweise höheren Belastung von Nahrungsmitteln 35-50µg (Stoeppler, 1991). Die meisten Speisepilze, aber auch Niere und Leber von Rindern und Schweinen enthalten über 100µg/kg Cadmium. Ein Mangel an Kalzium, Vitamin D und Spurenelementen wie Zink und Kupfer erhöht die intestinale Cadmiumaufnahme ebenso wie Eisenmangel. Der DCT-1 Metallionentransportkomplex, der bei Eisenmangel verstärkt zu finden ist, ist die Haupteintrittspforte für Cadmium aus dem Darm in das Blut (Gunshin et al., 1997). Beim Menschen wurde eine erhöhte Cadmiumresorption aus der Nahrung bei Eisendefizit festgestellt (Flanagan et al., 1978). Ferner wird eine intestinale Konkurrenz verschiedener Metallionen mit Cadmium um die Resorption angenommen, weil die Anwesenheit von Blei, Nickel und Magnesium im Darm die Cadmiumresorption erniedrigt (Foulkes, 1985).

Cadmiumbelastete Luft in der Metallindustrie und Zigarettenrauch sind die Hauptursachen für inhalative Cadmiumresorption. Ein 50-jähriger Nichtraucher hat eine Cadmiumgesamtkörperlast von 15mg, ein gleichaltriger Raucher von 30mg. Etwa 60% des im Tabakrauch enthaltenen Cadmium werden von der menschlichen Lunge resorbiert. Der durchschnittliche Cadmiumgehalt von Zigaretten liegt bei 1,2µg/g (Stoeppler, 1991). Inhalativ absorbiertes Cadmium erreicht die Blutbahn in Form von Cd-Cystein-Komplexen (Zalups und Ahmad, 2003). In den Alveolen zeigt sich eine Hyperplasie und Hypertrophie der Typ-2-Alveolarepithelzellen, eine

## Einleitung

inflammatorische Antwort mit polymorphkernigen Leukozyten sowie eine erhöhte Expression mehrerer Abwehrfaktoren nach inhalativer Cadmiumexposition (Hart et al., 2001).

### 1.2.2.2 Dermale Resorption von Cadmium

Der Resorptionsweg über die menschliche Haut ist bisher nur in geringem Umfang untersucht worden. 1964 führten Skog und Wahlberg Versuche zur dermalen Resorption radioaktiv markierter Metalle an Meerschweinchen durch. Cadmium wurde dabei zu einem Anteil von 1,8% in fünf Stunden resorbiert (Skog und Wahlberg, 1964). Fasanya-Odewumi et al. untersuchten die Genotoxizität und Cytotoxizität von dermal appliziertem Cadmium in Ratten. In Dosierungen von 14 bzw. 28 mg/kg pro Tag wurde den Tieren über eine Länge von 14, 21, 28, 35 und 42 Tagen Cadmiumchlorid-Lösung auf einem 3 x 3 cm Hautareal aufgetragen. Die Haut zeigte Hyperkeratose, Haarausfall, Rötungen und Verschorfungen. Hodenschwellungen, Nasenbluten, ein verminderter Bewegungsumfang sowie eine Atrophie der Nieren wurden ebenfalls beobachtet. Die Analyse von Zellmaterial aus Gehirn, Niere und Leber zeigte eindeutige DNA-Schäden. Das Ausmaß des DNA-Schadens stieg mit höherer Dosis und längerer Expositionszeit. Histopathologisch wurde in allen 3 Organen Kernmembranschäden, Abnahme der mitochondrialen Cristae, Fragmentierung des endoplasmatischen Retikulums und vermehrte Verdichtung des Chromatins nachgewiesen. Nach 28 Tagen nahm auch das Körpergewicht der Tiere gegenüber der Kontrollgruppe signifikant ab (Fasanya-Odewumi et al., 1998).

Amphibien, wie zum Beispiel Kröten, haben während des Winterschlafes eine extrem lange Kontaktzeit zu Bodenbestandteilen. Daher wird die dermale Cadmiumresorption hier als genauso wichtig wie die orale angesehen (James et al., 2004). Kröten der Sorte *Bufo americanus* zeigten nach sechs Monaten Winterschlaf in cadmiumbelasteten Böden (bis zu 120g Cadmium/100g Sand) einen signifikant erhöhten Cadmium-Gesamtkörpergehalt. Nach Lansdown hat es in den letzten Jahren eine Abkehr von der bis dahin herrschenden Auffassung, der dermale Resorptionsweg sei vernachlässigbar, gegeben. Auf der molekularen Ebene erleichtern zwei Mechanismen die Cadmiumresorption durch die Haut: Einmal die Bindung eines freien Cadmium-Ions an Sulfhydryl-Radikale des Cysteins im epidermalen Keratin, zum anderen die Induktion der Metallothionein-Bildung und

## Einleitung

anschließende Komplexbildung mit Metallothionein. Insbesondere vorangegangene Versuche mit Zink und Aluminium weisen darauf hin, dass zunächst eine Akkumulation der Metalle im Stratum corneum stattfindet. Eine durch erhöhte Konzentration der Metalle verursachte Denaturation der epidermalen Barrierschichten steigert ihre Permeabilität und macht auch die tieferen Schichten für die Fremdstoffe durchlässig (Lansdown und Sampson, 1996).

### 1.2.3 Toxizität und Metabolismus von Cadmium

Oral eingenommene große Mengen Cadmium führen zu Übelkeit, Erbrechen und Durchfall. Inhalation von cadmiumbelasteter Luft verursacht das Bild einer Pneumonitis mit Kurzatmigkeit, toxischem Lungenödem und Zerstörung der Schleimhäute im Respirationstrakt (Seidal et al., 1993) bis hin zum Vollbild des ARDS (Acute respiratory distress syndrom) (Barbee und Prince, 1999). Bei chronischer Cadmiumintoxikation zeigen Betroffene eine Gelbfärbung der Zahnhäule, Mineralisationsstörungen des Skeletts, Nierenbeteiligung mit Proteinurie sowie eine chronische Rhinitis mit Anosmie.

Einmal in die Blutbahn gelangt, wird Cadmium an Plasmaproteine wie Metallothionein (MT), und Albumin gebunden transportiert. Nur ein kleiner Teil liegt frei in Ionenform vor (Nordberg, 2004). Die Cadmiumkonzentration im Blut ist ein guter Indikator für die aktuelle Cd-Belastung. Für die Beurteilung der Gesamtkörperlast wird der Quotient aus Urin- und Blutkonzentration hinzugezogen (Jin et al., 2002).

In der Leber induziert Cadmium im Rahmen seiner Biotransformation eine erhöhte MT-Produktion. Cd-MT kann in hohen Dosen zur Nekrose von Leberzellen führen und so ins sinusoidale Blut gelangen. Andernfalls gelangt es in Form von Cadmium-Gluthation-Konjugaten in das Gallenwegssystem und den entero-hepatischen Kreislauf. Aus diesem wird es entweder über die Fäzes ausgeschieden oder im Dünndarm reabsorbiert (Zalups und Ahmad, 2003).

Die Nieren sind bei chronischer Cadmiumintoxikation besonders betroffen. Sie sind - auch wegen der mit 10 Jahren langen Halbwertszeit für Cadmium - Speicherort für 50% der Cadmiumlast des Körpers. An Proteine (z.B. MT) gebundenes Cadmium wird glomerulär filtriert und anschließend im proximalen Tubulus reabsorbiert. Hier wird es intrazellulär gespeichert, und kann nach Nekrose der Tubuluszelle mit dem

## Einleitung

Urin ausgeschieden werden. Ein Einfluss von Cadmium auf den renalen Kalzium- und Phosphatmetabolismus gilt als wahrscheinlich (Svartengren et al., 1986). Ein Indiz ist das vermehrte Auftreten von Nierensteinen aufgrund einer erhöhten renalen Kalziumausscheidung bei Patienten nach Cadmiumexposition. Die Hauptbiomarker für das Ausmaß des Nierenschadens sind  $\beta$ 2-Microglobulin, N-Acetyl- $\beta$ -Glucosaminidase und Retinol-Bindendes-Protein (RBP) im Urin (Bernard, 2004). Die ChinaCad-Studie zeigte signifikant höhere Urinwerte für  $\beta$ -2-Microglobulin und RBP bei cadmiumexponierten Personen als in der Kontrollgruppe (Jin et al., 2002).

Verschiedene Einflüsse von Cadmium auf das reproduktive System, unter anderem eine Interaktion mit der ovariellen Synthese von Steroidhormonen, sind festgestellt worden (Piasek und Laskey, 1999). Niedrige Dosen scheinen dabei die ovarielle Progesteronsynthese zu stimulieren, während hohe Cadmiummengen sie inhibieren (Henson und Chedrese, 2004). Cadmiumexposition in der Schwangerschaft erhöht das Risiko für ein geringeres Geburtsgewicht und eine höhere Rate an Aborten (Frery et al., 1993; Shiverick und Salafia, 1999).

Knochenmineralisationsstörungen nach Cadmiumexposition sind seit vielen Jahren bekannt (Kazantzis, 2004). Die Itai-Itai-Krankheit trat Mitte des 20. Jahrhunderts in der Präfektur Toyama in Japan auf. Dort waren Reisfelder mit Flusswasser bewässert worden, welches mit Cadmium aus stromaufwärts gelegenen Metallbetrieben belastet war. Der Verzehr von hoch cadmiumhaltigen Reis führte bei der Bevölkerung zu einer Demineralisation des Knochens, Spontanfrakturen mit starken Schmerzen, Nierenschäden und zahlreichen Infektionen. Die Symptome traten besonders stark bei postmenopausalen Frauen auf (Jin et al., 2002). Daher wurde eine starke Osteoporose durch Cadmiumintoxikation als Ursache angenommen. Mehrere Studien belegen dies. Die OSCAR-Studie mit 1021 Teilnehmern aus Südschweden zeigte eine herabgesetzte Knochendichte bei hoher Urin-Cadmiumkonzentration, speziell bei über 60-jährigen Personen. Die Studie wurde mit Anwohnern einer Batteriefabrik durchgeführt. Das Risiko für Unterarmfrakturen war in der cadmiumexponierten Gruppe ebenfalls signifikant höher als in der Kontrollgruppe (Jarup et al., 1998). Ein schädigender Einfluss von Cadmium auf den Vitamin D-Syntheseweg wird angenommen, möglicherweise über eine Interaktion mit renalen mitochondrialen Hydroxylasen (Chalkley et al., 1998). 2003 konnten Honda et al. einen Zusammenhang zwischen einem niedrigem STIFF-

## Einleitung

Index (einer Ultraschallmessung der Knochendichte) und einer hohen Cadmiumkonzentration im Urin zeigen (Honda et al., 2003). Ähnliche Ergebnisse zeigte die CadmiBel- und die PheeCad-Studien 1985-1995 in Belgien (Hotz et al., 1999; Staessen et al., 1999). In einem Fall ist sogar das Auftreten einer amyotrophen Lateralsklerose (ALS) bei einem Arbeiter in einer Batteriefabrik zwei Jahre nach Cadmiumexposition beschrieben worden (Bar-Sela et al., 2001).

Eine mögliche Karzinogenität von Cadmium ist nicht vollständig nachgewiesen. Frühe Studien zeigten eine Assoziation von Cadmium mit Nierenkarzinomen (Kolonel, 1976). Neuere Publikationen bestätigen dies (Il'yasova und Schwartz, 2005). Die IARC (International Agency for Research on Cancer) hat Cadmium als Karzinogen der Gruppe I klassifiziert. Waalkes et al. zeigten ein vermehrtes Vorkommen von Prostatakrebs in Ratten nach subkutaner Gabe von Cadmiumchlorid (Waalkes et al., 1988). Sie zeigten ebenfalls eine schwere Hodennekrose sowie eine höhere Inzidenz von Hodenkrebs bei Ratten nach Cadmiumgabe. Im Gegensatz zu Ergebnissen aus dem Labor (Goyer et al., 2004) konnte beim Menschen kein Zusammenhang zwischen Cadmium und Prostatakrebs gefunden werden (Sahmoun et al., 2005).

### 1.2.4 Arbeitsmedizinische Relevanz

In der Liste der Berufskrankheiten ist Cadmium unter dem Punkt 1104 „Erkrankungen durch Cadmium oder seine Verbindungen“ aufgeführt. Auch in anderen Industrienationen erlangt es zunehmende Aufmerksamkeit in der Arbeits- und Umweltmedizin (Godt et al., 2006). Dabei sind viele Berufskrankheiten und ihre Auswirkungen, zum Beispiel auf das Atmungssystem, oft der Prävention gut zugänglich (Groneberg et al., 2006). Zwischen 1965 und 2003 gab es 554 angezeigte Krankheitsfälle. Vier Fälle nahmen einen tödlichen Ausgang. Im gleichen Zeitraum traten 39 neue Rentenfälle auf. Die Höchstzahl von 34 neu angezeigten Fällen pro Jahr wurde 1988 und 1998 erreicht (Popp, 1998; Wendland und Mehrtens, 2003). Arbeitnehmer, die gegenüber Cadmium und Cadmiumverbindungen exponiert sind, sollten durch einen ermächtigten Arbeitsmediziner oder Betriebsarzt unter Berücksichtigung des berufsgenossenschaftlichen Grundsatzes G 32 regelmäßig untersucht werden (Hauptverband der gewerblichen Berufsgenossenschaften, 2004). Durch die Neufassung der Gefahrstoffverordnung im Jahre 2005 wurde eine Überarbeitung der alten TRGS 900 (Technische Regeln für Gefahrstoffe) notwendig.

## Einleitung

Die neue TRGS 900 (Stand Januar 2006) enthält nur noch gesundheitsbasierte Grenzwerte, die Arbeitsplatzgrenzwerte (AGW). Aus diesem Grund wurden beispielsweise technisch basierte Grenzwerte oder Stoffe mit unzureichender Datenlage aus der TRGS 900 gestrichen. Für Cadmium gibt es keinen Arbeitsplatzgrenzwert. In der alten TRGS 900 (Stand August 2004) war für Cadmium ein TRK-Wert (Technische Richtkonzentration) von  $0,015\text{mg/m}^3$  festgelegt. TRK-Werte waren nicht gesundheitsbasiert (bei ihrer Ableitung wurden keine toxikologischen oder arbeitsmedizinischen Daten zugrunde gelegt), sondern orientierten sich nur nach dem Stand der Technik, d.h. welche Expositionshöhen am Arbeitsplatz technisch erreichbar waren. Daher wurden diese nicht in die neue TRGS 900 übernommen (Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin, 2006). Die früheren BAT-Werte (Biologischer Arbeitsstofftoleranzwert) von Cadmium im Blut und im Urin von  $15\ \mu\text{g/l}$  sind wegen der krebserzeugenden Wirkung nicht mehr anwendbar und schützen nach neuen Erkenntnissen auch nicht ausreichend vor nephrotoxischen Wirkungen (Deutsche Forschungsgemeinschaft, 2004).

### 1.2.5 Cadmiumbelastung von Böden

Klärschlamm und Phosphatdünger sind die Hauptursachen für eine steigende Cadmiumbelastung der Böden und Feldfrüchte in Deutschland. So gab es 2002 im Landkreis Goslar auf einigen Feldern ein Anbauverbot für Weizen, weil der Cadmiumgehalt des Bodens eine zu hohe Cadmiumbelastung des Getreides verursachte (Bundesumweltministerium, 2002). In Skandinavien steigt der Cadmiumgehalt der landwirtschaftlich genutzten Böden um  $0,2\%$  pro Jahr (Jarup et al., 1998). Vergleiche von gelagerten Bodenproben aus der Mitte des 19. Jahrhunderts mit heute zeigen einen Anstieg des Cadmiumgehaltes zwischen  $27$  und  $55\%$  (Stoeppler, 1991). Im Raum Braunschweig beträgt die Cadmiumbelastung von Ackerland bis zu  $126\ \text{mg/kg}$  (Stadt Braunschweig, 1998). Die Bundes-Bodenschutz- und Altlastenverordnung (BBodSchV) sieht für Cadmium einen Prüfwert von  $2\ \text{mg/kg}$  Trockenmasse für Haus- und Kleingärten, die sowohl als Aufenthaltsbereiche für Kinder als auch für den Anbau von Nahrungspflanzen genutzt werden, vor. Für Kinderspielflächen beträgt der Prüfwert  $10\ \text{mg/kg}$ , für Industrieflächen  $60\ \text{mg/kg}$ .

## Einleitung

### **1.3 Die isolierte, hämoperfundierte Schweineextremität als Ersatzmethode für Tierversuche**

Isolierte, hämoperfundierte Organe von Schweinen werden seit längerer Zeit als Ersatzmethode zu Tierversuchen eingesetzt. Dabei sind in großen Zahlen vor allem Niere, Leber, Lunge und Herz perfundiert worden (Grosse-Siestrup, Fehrenberg et al., 2002). Im Extremitätenmodell sind bisher Resorptionsuntersuchungen unter anderem für Lidocain, Östrogene und Fentanyl durchgeführt worden (Nogueira et al., 1999).

#### **Funktionelle und anatomische Grundlagen der perkutanen Resorption**

Die Haut stellt das größte Organ des Menschen dar und spielt eine wichtige Rolle für den Wasser- und Wärmehaushalt, immunologische Prozesse und den Schutz vor physikalischen, chemischen und mikrobiellen Noxen.

Die fünfschichtige Epidermis besteht aus mehrschichtigem, verhorntem Plattenepithel. Sie ist gefäßlos und je nach Körperregion 0,04-1,5mm stark. Das Stratum corneum, die oberste Schicht, als nichtvitaler Teil aus ca. 20 Lagen Hornschuppen ist von einem Lipidfilm bedeckt und hat einen geringen Wassergehalt von 15-20%. Das Stratum germinativum über der Basalmembran bildet fortlaufend Zellersatz für die durch Hautabrieb verlorenen Epithelanteile. Das Korium besteht aus faserreichem Bindegewebe mit den Anteilen Stratum papillare und Stratum reticulare. Es schließt sich die binde- und fettgewebehaltige Subcutis an.

Der Passagevorgang von Substanzen durch die Haut gliedert sich in

- Penetration (Eindringen der Substanz in die Hornschicht)
- Permeation (Durchdringen in die Dermis)
- Resorption (Eindringen der Substanz in das Blutgefäßsystem).

Mehrere kinetische Modelle sind für die dermale Resorption von Pharmaka entwickelt worden. Nach Schaefer (Schaefer, 1982) sind diese in Grundzügen auch für die Resorption von Metallen anzunehmen (siehe Abbildung 1).

## Einleitung

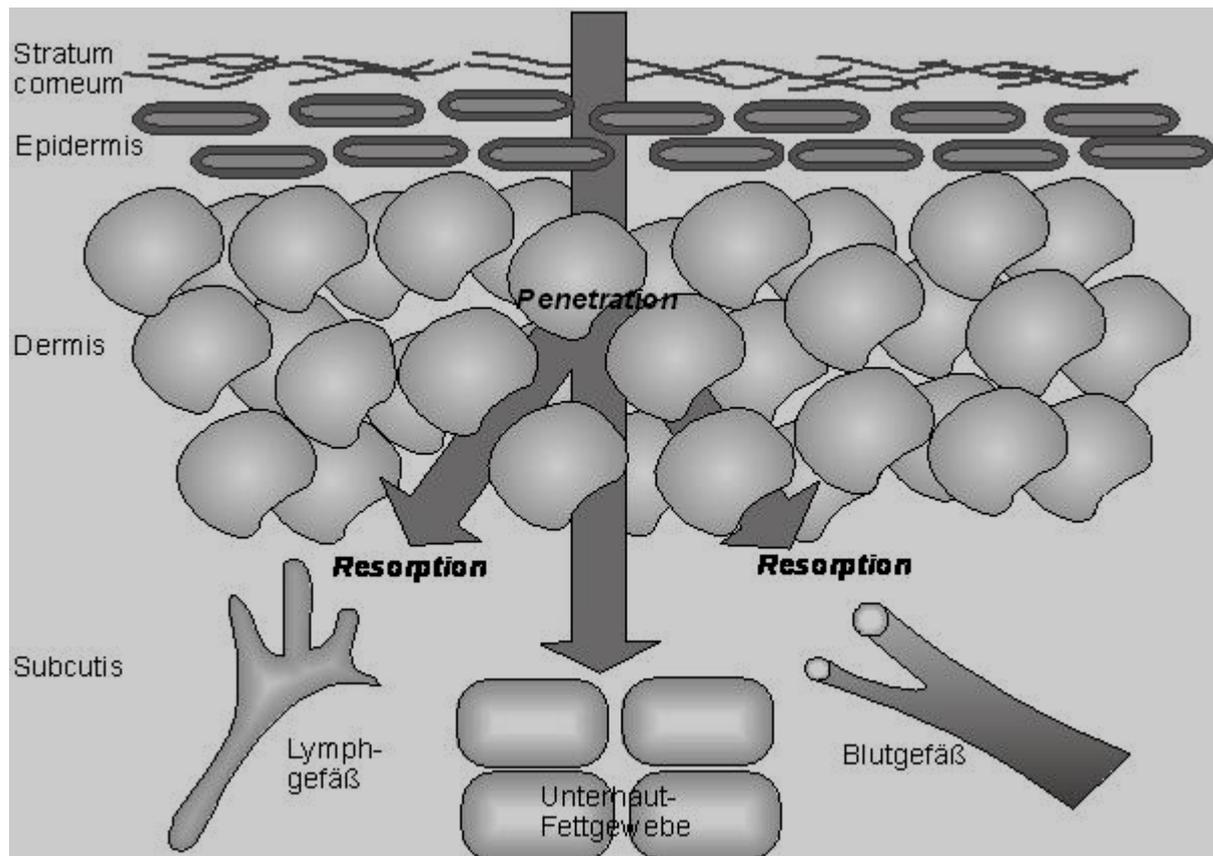


Abbildung 1: Passage von Substanzen durch die Haut, modifiziert nach Schaefer, 1982.

Das Haupthindernis für das Eindringen von Fremdstoffen durch die Haut ist die Hornschicht des Stratum corneum. Durch die Schichtung von lipophilen und hydrophilen Bestandteilen metabolisch nicht mehr aktiver Zellsagen ist dies eher eine physikalisch-passive Grenzfläche als eine biologisch-aktive Barriere. Auch der geringe Wassergehalt dieser Schicht trägt dazu bei (Guy et al., 1987).

Die Konzentration einer dermal applizierten Substanz nimmt daher von außen nach innen im Stratum corneum ab. Zesch et al. konnten dies in einer Studie mithilfe der Tape-Stripping-Methode zeigen. Nach mehrmaligem Abriss von Hornschichten zeigte sich in den unteren Lagen eine wesentlich geringere Konzentration der applizierten Substanz, einer tritiummarkierten Salbe (Zesch et al., 1973).

Die tieferen epidermalen Zellschichten stellen aufgrund weiterer Interzellularspalten kein so großes Hindernis für eine Moleküldiffusion dar wie das Stratum corneum. Dabei beschleunigen Haarbälge und Ausführungsgänge von Schweißdrüsen durch Shunt-Diffusion den Durchtritt in die Dermis. Von der dermalen Ebene aus erfolgt der Eintritt in das Lymph- und Blutgefäßsystem. Auch die Molekülgröße ist bei

## Einleitung

Fremdstoffen für den Durchtritt durch die Haut entscheidend. Die Interzellularspalten der Epidermis lassen Moleküle nur bis zu einer Größe von 1000 Dalton passieren (Guy et al., 1987).

Verschiedene weitere Faktoren haben Einfluss auf Resorptionsmenge und –geschwindigkeit eines Stoffes durch die Haut. Für Metalle sind dies insbesondere: Anzahl der Haarfollikel und Schweißdrüsen, Dicke der epidermalen Hautschicht und Keratingehalt (Lansdown, 1995). Eine Interaktion mit Keratinen scheint die Resorption von Metallionen durch die Haut zu behindern, während eine hohe Anzahl von Haarfollikeln und Schweißdrüsen eine größere Resorptionsmenge ermöglicht. Eine zumindest teilweise Permeabilität der Haut für Metalle wie Zink, Cadmium, Blei und Arsen gilt als gesichert (Lansdown, 1995).

Cadmium induziert in der Epidermis die Bildung von Metallothionein. In einer Studie an der Haut von Mäusen und menschlichen Hautzellkulturen wurde sogar ein möglicher protektiver Effekt gegen UV-B-Strahlung gezeigt, der dieser Metallothionein-Produktion durch Cadmium zugrunde liegt (Hanada et al., 1991).

### **1.3.1 In-vitro-Hautmodelle zur Resorptionsprüfung von Substanzen**

In den letzten Jahrzehnten sind verschiedene In-vitro Hautmodelle entwickelt worden, die als Alternativmethoden zum Tierversuch zur Verfügung stehen. Eine Übersicht dazu liefert Tabelle 1.

## Einleitung

Testsystem, Literatur	Prinzip	Vorteile	Nachteile
Franz-Diffusionszelle (Franz, 1975)	Präparierte Haut in Doppelkammer mit Nährlösung eingespannt, Prüfsubstanz-Nachweis auf der der Applikationskammer gegenüberliegenden Seite	Menschliche Haut (z.B. von Leichen) nutzbar, einfache Durchführung	Keine Hautdurchblutung
Kultivierte Haut, z.B. von menschlichen Zellen auf Nährmatrix (Monteiro-Riviere et al., 1997)	Resorption durch in-vitro kultiviertes Gewebe gemessen	Gut verfügbar, einfache Handhabung	Keine Perfusion, Hautschichten unvollständig
Isoliertes, perfundiertes Rindereuter (Kietzmann et al., 1993)	Perfusion von Rindereutern mit Tyrodelösung, Resorptionsuntersuchungen	Gut verfügbar, große Hautfläche vorhanden	Große Wundfläche, differente Eigenschaften der Euterhaut
Isoliertes, perfundiertes Schweineohr (de Lange et al., 1992)	Über arterielle und venöse Kanülierung perfundiertes Schweineohr	Gut verfügbar, langjährige Erfahrung	Kleine Prüffläche, gering durchblutetes Knorpelgewebe
Isolierte, perfundierter Schweinehautlappen (Riviere und Monteiro-Riviere, 1991)	Bauchhautpräparat von Schweinen über epigastrische Gefäße perfundiert	Vitale Erhaltung über 12 Stunden	Aufwendige Technik (2 über mehrere Tage versetzte Eingriffe notwendig)

Tabelle 1: In-vitro-Modelle zur perkutanen Resorption

## Einleitung

### 1.4 Ziel der Arbeit

Der Wissensstand über Gefährdungen der Gesundheit durch Arbeits- und Umweltschadstoffe ist umfangreich. Insbesondere zur Aufnahme über das Verdauungs- und Atmungssystem gibt es zahlreiche Studien. Zu Fragestellungen über den dermalen Resorptionsweg existieren hingegen nur wenige Arbeiten, die zumeist unter der Durchführung von Tierversuchen entstanden. Die darin verwendeten Kleintierspezies weisen insbesondere in der Hautstruktur größere Differenzen zur menschlichen Haut auf als die Haut des Schweines. Die isolierte, hämoperfundierte Schweineextremität ist ein Modell, in dem Resorptionsprüfungen unter Verzicht auf Tierexperimente durchführbar sind. Daraus ergibt sich folgende Zielsetzung:

- I. Adaptierung des Modells der isolierten, hämoperfundierten Schweineextremität an die Resorptionsprüfung von Arbeits- und Umweltschadstoffen aus Bodenproben. Konstruktion einer Applikationskammer.
- II. Prüfung der Resorption am Beispiel einer Testsubstanz und Kopplung der Versuche mit Messungen von Schadstoffkonzentrationen in Blut- und Dialysatproben (Biomonitoring).
- III. Messung von Vitalitätsparametern über den Expositionszeitraum.