



Untersuchungen zur Hautgängigkeit von Gefahrstoffen

Von der Franz-Kammer bis zum Expositionslabor

Eike Maximilian Marek, Stephan Koslitz, Manigé Fartasch, Tobias Weiß, Heiko Käfferlein, Thomas Brüning

Bei Gefahrstoff-Expositionen am Arbeitsplatz kann der Gefahrstoff auf unterschiedlichen Wegen in den Körper des Menschen gelangen. Die dermale Resorption spielt für viele Stoffe dabei eine nicht zu vernachlässigende Rolle, die von verschiedenen Faktoren beeinflusst werden kann. Wie aber kommt man zu einer übergreifenden Interpretation und Bewertung der Penetration einzelner Gefahrstoffe oder Gefahrstoffgruppen mit oftmals unmittelbarer Auswirkung auf die betriebliche Prävention?

Die Exposition gegenüber chemischen Gefahrstoffen am Arbeitsplatz wird maßgeblich von der Konzentration des Gefahrstoffs sowie über das Verhältnis der drei potenziellen Aufnahmewege zueinander (inhalativ, dermal, oral) bestimmt. Mit Abnahme einer Gefahrstoffexposition über die Luft steigt in der Regel die Bedeutung der dermalen Exposition relativ dazu an (SCOEL, 2013). Eine dermale Resorption kann jedoch bereits vollkommen alleine oder auch in Kombination mit der inhalativen Aufnahme zu toxikologisch relevanten Konzentrationen im Körper des Menschen führen.

Neben den chemisch-physikalischen Stoffeigenschaften kommt vor allem der Physiologie der Haut eine besondere Rolle zu. Die Haut eines Erwachsenen hat eine Oberfläche von bis zu 2 m². Sie besteht aus der Epidermis (Oberhaut), der Dermis (Lederhaut) und der Subkutis (Unterhaut). Die Hornschicht der Epidermis fungiert dabei als erste Barriere der Haut, um den Eintritt von Gefahrstoffen in den

Organismus zu verhindern. Sie besteht je nach Lokalisation aus 12-20 Schichten von Hornzellen, die nicht von Blutgefäßen versorgt werden und zudem nur einen geringen Wassergehalt aufweisen. Von Bedeutung für die Aufnahme von Gefahrstoffen soll auch die mikrobielle Hautflora sein, die oftmals erst eine Metabolisierung von Gefahrstoffstoffen und so das Eindringen von mehr oder weniger toxischen Abbauprodukten ermöglicht (Zhang et al., 2009). Haben Fremdstoffe oder ihre Abbauprodukte die Epidermis einmal überwunden, können sie über die Blutgefäße in der Lederhaut und den darunter liegenden Hautschichten in den Blutkreislauf gelangen und sich anschließend im Körper verteilen.

Kennzeichnung hautresorptiver Stoffe

Regulatorische Behörden weltweit haben aufgrund der Bedeutung der Hautresorption für die Sicherheit und Gesundheit bei der Arbeit verschiedene Vorgehensweisen entwickelt, hautresorptive Stoffe

zu kennzeichnen (u.a. mit der Zusatzbezeichnung „Skin“ oder, im deutschsprachigen Raum, durch die Markierung „H“ für Haut) (Dotson et al., 2011; DFG, 2015; TRGS 900). Auch wenn es geringfügige Unterschiede zwischen einzelnen Gremien gibt, gehen alle Bewertungen davon aus, dass die Hautresorption allein zu einer toxikologisch relevanten Konzentration im Körper des Menschen führen muss, um eine entsprechende Kennzeichnung zu erhalten. Die Kennzeichnung ist damit nicht nur mit den prinzipiellen Stoffeigenschaften verknüpft (z.B. dem rein qualitativ vorhandenen Potenzial einer Hautresorption), sondern sie beinhaltet eine quantitative Komponente und ist somit auch gesundheits- bzw. risikobasiert.

Als „toxikologisch relevant“ gilt bei der MAK-Kommission der Deutschen Forschungsgemeinschaft eine penetrierte Menge, die zu mindestens 25 Prozent zum chronisch systemischen „No Observed Adverse Effect Levels“ (NOAEL) beim Menschen beträgt (DFG, 2015). Beim NOAEL handelt es sich um diejenige Konzentration bzw. Dosis, bei der in einem Experiment keine adversen (d.h. außerhalb der Norm liegenden), systemischen Effekte beobachtet werden konnten, bei Überschreitungen derartige Effekte jedoch nicht ausgeschlossen werden können.

Humanbiomonitoring als Konsequenz einer H-Markierung

Die Markierung eines Stoffes als hautresorptiv hat unmittelbare Konsequenzen für die betriebliche Prävention: Beim Umgang mit hautresorptiven Substanzen wird grundsätzlich ein Humanbiomonitoring (HBM) zur Expositionsüberwachung am Arbeitsplatz empfohlen (SCOEL, 2013) beziehungsweise ist nach AMR 6.2 indiziert (BMAS, 2014). Im Rahmen eines HBM können Aussagen über das Potenzial und die Bedeutung einer zusätzlichen Hautresorption von Gefahrstoffen am Arbeitsplatz getroffen werden, die mittels einer reinen Expositionsüberwachung der Arbeitsplatzluft nicht gemacht werden können. Aufgrund der Berücksichtigung aller drei Expositionspfade (dermal, inhalativ, oral) wird bei einem HBM eine eventuell gleichzeitig vorhandene Exposition über die Arbeitsplatzluft oder eine orale Exposition (z.B. durch unbewussten Hand/Mund-Kontakt) dennoch nicht vernachlässigt.

Was wird wie bewertet bei der Hautresorption?

Die höchste Aussagekraft besitzen Untersuchungen am Menschen, unter anderem Erkenntnisse aus dem Humanbiomonitoring nach dermalen Applikation des Gefahrstoffes auf die Haut oder einer Exposition unter Atemschutz, um die dermale Resorption abzuschätzen, die direkt aus der Gasphase in der Umgebungsluft resultiert (DFG, 2015). Auch können Erfahrungen aus der betrieblichen Praxis herangezogen werden, wenn zum Beispiel vergleichende Untersuchungen zur Exposition mittels Luftmonitoring und Biomonitoring vorliegen und dabei die Höhe der Ergebnisse des Biomonitorings nicht allein mit denjenigen der Luftexposition erklärt werden kann (zum Beispiel fehlende Assoziation äußere versus innere Dosis).

Liegen keine beziehungsweise nur eingeschränkte Erkenntnisse beim Menschen vor, können in einem weiteren Schritt tierexperimentelle und *In-vitro*-Untersuchungen zur Bewertung der Haut-

resorption herangezogen werden. Derartige Untersuchungen gewinnen besondere Relevanz im Falle krebserzeugender, erbgutverändernder und reproduktionstoxischer Substanzen, die aus ethischen Gründen nicht oder nur eingeschränkt am Menschen getestet werden können. Aber auch die Herleitung relevanter Kenngrößen der Hautresorption (zum Beispiel des Fluxes) allein auf Basis physikalisch-chemischer Stoffeigenschaften mittels mathematischer Modelle ist bewertungsrelevant, insbesondere dann, wenn experimentelle Daten vollständig fehlen (Anissimov et al., 2013; Jepps et al., 2013).

Umfassende Berücksichtigung modulierender Faktoren notwendig

Optimale experimentelle Ansätze greifen möglichst mehrere Aspekte unter unterschiedlichen Blickwinkeln auf, um ein umfassendes Bild zu den hautresorptiven Eigenschaften eines Gefahrstoffes zu generieren. Insbesondere werden in ihnen auch modulierende Faktoren untersucht, unter anderem inwieweit die Hautpenetration eines Gefahrstoffes durch Feuchtarbeit oder durch Hautschäden beeinflusst wird (Chiang et al., 2012). Weiterhin sollte die gleichzeitige Einwirkung von irritativen Substanzen untersucht werden, die ebenfalls zu einer Penetrations- und Resorptionsveränderung führen können (Fartasch et al., 2015).

Die unterschiedlichen Mengen des applizierten Gefahrstoffes und damit der Einfluss der Stoffkonzentration müssen dabei besonders berücksichtigt werden. So konnte gezeigt werden, dass typische Kenngrößen der Hautresorption (zum Beispiel der Flux) konzentrationsabhängig sind (Samaras et al., 2012; Saghir SA et al., 2010). Auch können Lösemittel und Additive (zum Beispiel Emulgatoren) als Penetrationsverstärker dienen (Williams und Barry, 2004). Zusätzlich sind die begleitenden klimatischen Bedingungen (Umgebungstemperatur, Luftfeuchtigkeit) und der Hautzustand (Dicke, Hydratation, Blutversorgung, Hautschäden und -krankheiten) wichtige Einflussgrößen. Um die Hautresorption am Arbeitsplatz und die damit einhergehende Gefährdung und das Risiko adäquat beurteilen zu können, müssen folglich neben einer reinen Guideline-gemäßen Testung der Hautresorption (zum Beispiel gemäß OECD, 2004) auch spezifische praxisrelevante und arbeitsplatztypische Konzentrationen und Expositionsszenarien berücksichtigt werden. Dies ist von besonderer Bedeutung in Begutachtungsfällen, um die in der Vergangenheit vorhandenen Expositionsumstände möglichst realitätsnah in experimentellen Studien nachzustellen.

Detaillierte Untersuchungen zu aromatischen Aminen am IPA

Aufgrund ihrer Relevanz für die Unfallversicherungsträger im Bereich gefahrstoffverursachter Krebserkrankungen werden am IPA insbesondere aromatische Amine als Modellsubstanzen zur Untersuchung der dermalen Resorption herangezogen. Eine berufliche Exposition gegenüber bestimmten aromatischen Aminen kann bekanntlich Harnblasenkrebs verursachen. Insbesondere in der Vergangenheit gab es hierbei Expositionsszenarien, bei denen unklar war, inwiefern eine dermale Exposition einen Beitrag zum Harnblasenkrebsrisiko lieferte. Dies wirkt sich aufgrund der langen Latenzzeiten der Erkrankung bis in die Gegenwart aus.



Abb. 1: Untersuchungen am IPA zeigen, dass sekundäre aromatische Amine wie das Phenyl-2-naphthylamin im Gegensatz zu früheren Erkenntnissen, durchaus in geringen Mengen durch die Haut penetrieren können. Dies konnte sowohl in *In-vitro*-Untersuchungen an der Franz-Diffusionszelle (diese Abbildung) wie auch *in vivo* in tierexperimentellen Untersuchungen am lebenden Organismus und intakter Haut gezeigt werden.

Zusätzlich treten aber auch heutzutage noch unvermeidbare Expositionen gegenüber Vertretern dieser Substanzklasse auf, da aromatische Amine und ihre Derivate weiterhin wichtige Vor-, Zwischen- und Endprodukte in der Industrie sind (unter anderem in der Kunststoff-, Farbmittel- und Medikamentenproduktion). Von vielen der Ausgangs- und Endprodukte sind dabei die chronischen Wirkungen (und hier vor allem das krebserzeugende Potenzial) nicht bekannt.

Lipophile aromatische Amine eine besondere Herausforderung

Während die Hautresorption primärer aromatischer Amine wie das Anilin, o-Toluidin aber auch die des 2-Naphthylamins gut beschrieben ist (Lüersen et al., 2006), ging man bisher für eine Reihe von sekundären, eher lipophilen aromatischen Aminen wie dem Phenyl-2-naphthylamin (P2NA) davon aus, dass sie nicht über die Haut resorbiert werden (Wellner et al., 2008; Weiß et al., 2007). Der fehlende Nachweis einer Hautresorption ist nach aktuellem Kenntnisstand dabei jedoch größtenteils auf die experimentellen Bedingungen sowie auf die Nachweisgrenzen der verwendeten analytischen Verfahren zurückzuführen. Auch haben die von der OECD vorgeschlagenen Rahmenbedingungen in den entsprechenden Guidelines zur Testung der Hautresorption (OECD, 2004) oft-

mals nichts mit den tatsächlichen Expositionsumständen am Arbeitsplatz zu tun, wo kurze Expositionszeiten und die lipophilen Gefahrstoffe nahezu vollständig gelöst in organischen Lösemitteln oder Fetten vorliegen können. Eine Guideline-konforme Testung liefert damit oftmals nur einen eingeschränkten Beitrag zur Gefährdungs- und Risikoanalyse.

Geringe dermale Resorption von P2NA durchaus nachweisbar

Optimiert man die entsprechenden analytischen Verfahren und standardisiert die Test-Bedingungen ist durchaus eine dermale Resorption von P2NA nachweisbar (Marek et al., 2014). So konnte in ersten Untersuchungen am IPA gezeigt werden, dass P2NA *in vitro* (unter Verwendung von Franz-Diffusionszellen) durch die Haut penetriert (Marek et al., 2016). Dies ist auch bei der Simulation arbeitsplatznaher Bedingungen der Fall, unter anderem wenn die Bedingungen des *In-vitro*-Versuchs so angepasst werden, wie sie in der Vergangenheit an den Arbeitsplätzen vorherrschten. So konnten folgende Kenngrößen für die dermale Penetration von P2NA *in vitro* festgestellt werden, wie sie unter anderem in der Vergangenheit beim Einsatz von Gummituchregenerierern in der Druckindustrie vorlagen: $0,02 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ (maximaler Flux); $0,8 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ (kumulierte penetrierte Menge); 0,04 Prozent (Wiederfindung) und 6,3

h (Lag-Time). Die Penetration ist damit deutlich geringer im Vergleich zu primären (und damit polarerer) aromatischen Aminen.

Ein weiterer Unterschied zwischen polaren und unpolaren aromatischen Aminen zeigte sich bei der Ausbildung eines Hautdepots. So verbleibt ein großer Anteil des durch die Epidermis penetrierenden P2NA in der Dermis und Subkutis der Haut. Verglichen mit den Mengen an P2NA im Rezeptormedium der Franz-Kammern war in den Hautschichten eine 10-40-fache Menge an P2NA zu finden. Dieses Depot, aus dem der Gefahrstoff weiterhin langsam (aber kontinuierlich) freigesetzt werden kann („transiente dermale Exposition“), findet zunehmend Beachtung in der Wissenschaft (Frasch und Bunge, 2015).

Qualitativ konnten am IPA die *In-vitro*-Ergebnisse zu P2NA auch in tierexperimentellen Studien am lebenden Schwein bestätigt werden (Koslitz et al., 2015, 2016). So konnten nach wiederholter, nicht okklusiver Applikation unter den o.g. arbeitsplatztypischen Bedingungen in der Druckindustrie mittlere Konzentrationen an P2NA bis zu 2,3 µg/L (Bereich 1,2–4,0 µg/L) im Blut der Versuchstiere festgestellt werden.

Inwiefern diese Ergebnisse auf andere Arbeitsplätze mit entsprechend anderen Expositionsszenarien und modulierenden Faktoren übertragen werden können, bedarf einer Fall-zu-Fall-Entscheidung und damit einer experimentellen Berücksichtigung der jeweils spezifischen Arbeits- und Umgebungsbedingungen.

Dermale Penetration von Anilin aus Gasphase direkt nachweisbar

Neben der Aufnahme von Gefahrstoffen nach direktem Hautkontakt bilden auch Untersuchungen, die eine unmittelbare dermale Resorption des Stoffes in Dampfform aus der Umgebungsluft heraus betreffen, einen Schwerpunkt am IPA. Insbesondere amphiphile Gefahrstoffe können eine derartige Eigenschaft aufweisen. Der Begriff „amphiphil“ bezeichnet Stoffe, die sowohl in polaren Lösemitteln als auch in unpolaren Lösungsmittelelementen gut löslich sind.

Sehr gut beschrieben ist beim Menschen die direkte Aufnahme aus der Luft und über die Haut unter anderem bei den Lösemitteln N,N-Dimethylformamid (Mráz und Nohová, 1992; Tsuda et al., 2014) sowie N-methyl-2-pyrrolidon (Bader et al., 2008). Zu aromatischen Aminen gibt es bisher keine entsprechenden systematischen Untersuchungen am Menschen, auch wenn Hinweise auf eine dermale Penetration aus *In-vitro*-Studien vorliegen (Wellner et al., 2008).

Aus diesem Grund untersuchte das IPA die dermale Resorption von Anilin aus der Gasphase über die Haut in den Körper des Menschen. Dazu wurden vier freiwillige Probanden mit Atemschutz (zum Ausschluss einer inhalativen Exposition) im Expositionslabor des IPA über sechs Stunden dem derzeit gültigen Arbeitsplatzgrenzwert (AGW) von 2 ppm Anilin in der Umgebungsluft ausgesetzt. In zweistündigen Abständen während der Exposition sowie einer Nachbeobachtungszeit bis zu 24 Stunden wurden Blut- und Urinproben entnommen und auf die Bildung von Methämoglobin

(Met-Hb) sowie Anilin-spezifischen Metaboliten untersucht. Die Ergebnisse wurden vergleichend denjenigen gegenüber gestellt, die bei denselben Personen erhoben wurden, ohne dass diese Atemschutz trugen.

Erste Ergebnisse zeigen, dass Anilin direkt aus der Luft über die Haut resorbiert wird. Es war sowohl ein Anstieg an Anilin-spezifischen Metaboliten im Urin als auch ein Anstieg von Met-Hb im Blut zu beobachten. Vergleicht man die 6-Stundenwerte an Met-Hb jedes einzelnen Probanden mit beziehungsweise ohne Maske, so werden rund 40-70 Prozent des gebildeten Met-Hb durch die dermale Resorption an Anilin verursacht. Relativierend ist jedoch anzumerken, dass die rein dermale Exposition dennoch zu keiner Überschreitung des Hintergrundwertes von im Mittel 0,8 Prozent Met-Hb in nicht exponierten Kontrollprobanden führte. Letzteres wird jedoch bei einer kombinierten Exposition (ohne Maske, das heißt inhalativ und dermal) gegenüber 2 ppm Anilin beobachtet. Hier lagen die gemessenen Met-Hb-Werte bei den betreffenden vier Personen zwischen 1.0 und 1.6 Prozent.

Fazit für die Praxis

Die Ergebnisse am Beispiel P2NA und Anilin zeigen, dass sich praxisrelevante Fragestellungen zur dermalen Penetration und Resorption von Gefahrstoffen sowie ihrer Wirkung sehr gut mittels standardisierter und qualitätsgesicherter wissenschaftlicher Untersuchungen sowohl *in vitro* als auch *in vivo* lösen lassen. Die Untersuchungsmethoden können dabei den jeweiligen Arbeitsplatzbedingungen hochspezifisch angepasst, wo notwendig auch kombiniert werden. Die Verfahren sind generell auf eine Vielzahl von arbeitsplatzrelevanten Gefahrstoffen übertragbar, solange ausreichend sensitive und spezifische analytische Messverfahren zum Nachweis der Gefahrstoffe vorliegen beziehungsweise entwickelt werden können. Dabei werden nicht nur vorhandene Wissenslücken zur Penetration ausgewählter Gefahrstoffe geschlossen. Kontrollierte Expositionen und die qualitätsgesicherte Untersuchung gesundheitlicher Effekte an gesunden, freiwilligen Probanden können – wie am Beispiel Anilin gezeigt – auch einen wertvollen Beitrag für die Ableitung von gesundheitsbasierten Grenzwerten darstellen (Käfferlein et al., 2014).

Die Autoren:

**Prof. Dr. Thomas Brüning, Prof. Dr. Manigé Fartasch,
Dr. Heiko Käfferlein, Stephan Koslitz,
Eike Marek, Dr. Tobias Weiß**
IPA

[Beitrag als PDF](#)



Literatur

1. Anissimov YG et al. Mathematical and pharmacokinetic modelling of epidermal and dermal transport processes. *Adv Drug Deliv Rev* 2013; 65: 169-190
2. Bader M et al. Human volunteer study on the inhalational and dermal absorption of N-methyl-2-pyrrolidone (NMP) from the vapour phase. *Arch Toxicol* 2008; 82: 13-20
3. BMAS, Bundesministerium für Arbeit und Soziales. AMR Nr. 6.2 „Biomonitoring“, GMBI Nr. 5, 24. Februar 2014, S. 91.
4. Chiang A et al. Percutaneous absorption in diseased skin: an overview. *J Appl Toxicol* 2012; 32: 537-563
5. DFG, Deutsche Forschungsgemeinschaft. Kriterien für die Vergabe der "H"-Markierung, [MAK Value Documentation in German language], The MAK Collection for Occupational Health and Safety 2015 (<http://onlinelibrary.wiley.com/book/10.1002/3527600418>)
6. Dotson GS et al. The evolution of skin notations for occupational risk assessment: a new NIOSH strategy. *Regul Toxicol Pharmacol* 2011; 61: 53-62
7. Fartasch M et al. S1 guideline on occupational skin products: protective creams, skin cleansers, skin care products (ICD 10: L23, L24) – short version. *JDDG* 2015; 13: 594-606
8. Frasch HF and Bunge AL. The transient dermal exposure II: post-exposure absorption and evaporation of volatile compounds. *J Pharm Sci* 2015; 104: 1499-1507
9. Jepps OG et al. Modeling the human skin barrier – towards a better understanding of dermal absorption. *Adv Drug Deliv Rev* 2013; 65: 152-168
10. Käfferlein HU et al. Human exposure to airborne aniline and formation of methemoglobin: a contribution to occupational exposure limits. *Arch Toxicol* 2014; 88: 1419-1426
11. Koslitz S et al. Voraussetzungen für in-vivo-Studien zur dermalen Penetration von Phenyl-2-naphthylamin – Entwicklung von Biomonitoringverfahren. 55. Wissenschaftliche Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Arbeitsmedizin und Umweltmedizin e.V., 18.-20. März 2015, München, 53
12. Koslitz S et al. Dermal Penetration von N-Phenyl-2-Naphthylamin in vivo. 56. Wissenschaftliche Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Arbeitsmedizin und Umweltmedizin e.V., 09.-11. März 2016, München, 76
13. Lüersen L et al. Penetration of beta-naphthylamine and o-toluidine through human skin *in vitro*. *Arch Toxicol* 2006; 80: 644-646
14. Marek EM et al. Untersuchung der dermalen Penetration von lipophilen Substanzen am Beispiel N-Phenyl-2-Naphthylamin (P2NA). 54. Wissenschaftliche Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Arbeitsmedizin und Umweltmedizin e.V., 02.-04. April 2014, Dresden, Umweltmed. Hyg. Arbeitsmed. 19
15. Marek EM et al. Untersuchung der dermalen Penetration von Phenyl-2-Naphthylamin und 2-Naphthylamin aus Schmierfetten. 56. Wissenschaftliche Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Arbeitsmedizin und Umweltmedizin e.V., 09.-11. März 2016, München, 76-77
16. Mráz J and Nohová H. Percutaneous absorption of N,N-dimethylformamide in humans. *Int Arch Occup Environ Health* 1992; 64: 79-83
17. OECD, Organisation for Economic Co-operation and Development Guidance document for the conduct of skin absorption studies. OECD environmental health and safety publications, Testing and Assessment No. 28, Paris 2004
18. Samaras EG et al. The effect of formulations and experimental conditions on *in vitro* human skin permeation-Data from updated EDETOX database. *Int J Pharm* 2012; 434: 280-291
19. Saghir SA et al. Dermal penetration of ethylene glycol through human skin *in vitro*. *Int J Toxicol* 2010; 29: 268-276
20. SCOEL, Scientific Committee on Occupational Exposure Limits Methodology for the derivation of occupational exposure limits. Key Documentation (version 7), European Commission, Brussels 2013
21. TRGS 900 Arbeitsplatzgrenzwerte, zuletzt geändert und ergänzt: GMBI, Nr. 24, 24. Juni 2016, 474
22. Tsuda Y et al. Seasonal difference in percutaneous absorption of N,N-dimethylformamide as determined using two urinary metabolites. *J Occup Health* 2014; 56: 252-259
23. Weiß T et al. Dephenylation of the rubber chemical N-phenyl-2-naphthylamine to carcinogenic 2-naphthylamine: a classical problem revisited. *Crit Rev Toxicol* 2007; 37: 553-566
24. Wellner T et al. Percutaneous absorption of aromatic amines – A contribution for human health risk assessment. *Food Chem Toxicol* 2008; 46: 1960-1968
25. Williams AC and Barry BW Penetration enhancers. *Adv Drug Deliv Rev* 2004; 56: 603-618
26. Zhang Q et al. Cutaneous metabolism in transdermal drug delivery. *Curr Drug Metab* 2009; 10: 227-235