

---

# Mögliche gesundheitliche Effekte inhalierter Nanopartikel

— Expositionsstudie an Gesunden mittels

Desktop-3D-Drucker im Schichtdruckverfahren

Ina Gümperlein

---



München 2019



Aus dem Institut und der Poliklinik für Arbeits-, Sozial- und  
Umweltmedizin der Ludwig–Maximilians–Universität München

Direktor: Prof. Dr. med. Dennis Nowak

---

# Mögliche gesundheitliche Effekte inhalierter Nanopartikel

— Expositionsstudie an Gesunden mittels

Desktop-3D-Drucker im Schichtdruckverfahren

---

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Humanbiologie

der medizinischen Fakultät der

Ludwig–Maximilians–Universität zu München

vorgelegt von

Ina Gümperlein

aus München

2019

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München

Berichterstatter: PD. Dr. rer. nat. Rudolf A. Jörres

Mitberichterstatter: PD Dr. med. univ. Dr. biol. hom. Nikolaus Kneidinger

Prof. Dr. med. Hermann Fromme

Mitbetreuung durch den  
promovierten Mitarbeiter: Dr. rer. nat. Rudolf Schierl

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Tag der mündlichen Prüfung: 05.02.2019

# Inhaltsverzeichnis

<b>1. Einleitung &amp; Theorie</b>	<b>1</b>
1.1. Ultrafeinstaub im Körper . . . . .	2
1.1.1. Charakteristiken von Ultrafeinstaub . . . . .	2
1.1.2. Exposition und Aufnahmewege . . . . .	3
1.1.3. Deposition in der Lunge . . . . .	4
1.1.4. Clearance . . . . .	7
1.2. Messmetriken für Partikelmessungen . . . . .	10
1.3. Additive Fertigungsverfahren (3D-Druck) . . . . .	11
1.3.1. Schichtdruckverfahren für den Privatanwender . . . . .	11
1.3.2. Filamente für das Schichtdruckverfahren . . . . .	13
1.4. Stand der Forschung . . . . .	14
1.4.1. Gesetzliche Regelungen . . . . .	14
1.4.2. Ultrafeinstaub aus 3D-Druckern . . . . .	16
1.5. Expositionsstudie . . . . .	18
1.5.1. Entzündungsmarker im Urin . . . . .	18
1.5.2. Entzündungsmarker im Nasensekret . . . . .	21
1.5.3. Fraktioniertes exhalierendes Stickstoffmonoxid (FeNO) . . . . .	23
1.6. Hypothese & Ziel . . . . .	24
<b>2. Methoden</b>	<b>25</b>
2.1. Probanden . . . . .	25
2.2. Studienprotokoll . . . . .	28
2.3. 3D-Druck . . . . .	29
2.3.1. Überwachung der Partikelemissionen . . . . .	31
2.4. VOC-Emissionen in separatem Messaufbau . . . . .	35
2.5. Biomarker im Nasensekret . . . . .	37
2.5.1. Sekretgewinnung . . . . .	37
2.5.2. Zytokine . . . . .	38
2.5.3. ECP . . . . .	38

2.6.	Bestimmung von 8-iso-Prostaglandin F <sub>2α</sub> im Urin . . . . .	39
2.6.1.	Probenaufbereitung . . . . .	39
2.6.2.	Derivatisierung mit BSTFA . . . . .	39
2.6.3.	Gaschromatographische Analyse . . . . .	41
2.6.4.	Methodenentwicklung und Validierung . . . . .	43
2.7.	Lungenfunktion und Biomarker in der Ausatemluft . . . . .	44
2.7.1.	Spirometrie . . . . .	44
2.7.2.	Exhalierendes Kohlenstoffmonoxid (CO) . . . . .	45
2.7.3.	Fraktioniertes exhalierendes Stickstoffmonoxid (FeNO) . . . . .	45
2.8.	Fragebögen . . . . .	46
2.8.1.	Fragebogen zur chem. & allg. Umweltsensitivität (CAUS) . . . . .	46
2.8.2.	Symptomfragebogen . . . . .	46
2.9.	Statistische Auswertung . . . . .	47
<b>3.</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>49</b>
3.1.	Charakterisierung der Partikelexposition . . . . .	49
3.2.	Biomarker im Nasensekret . . . . .	53
3.2.1.	Zytokine . . . . .	53
3.2.2.	Eosinophiles kationisches Protein (ECP) . . . . .	62
3.3.	Lungenfunktion und Biomarker in der Ausatemluft . . . . .	63
3.3.1.	Exhalierendes Kohlenstoffmonoxid (CO) . . . . .	63
3.3.2.	Spirometrie . . . . .	63
3.3.3.	Exhalierendes Stickstoffmonoxid (FeNO) . . . . .	66
3.4.	Biomarker für oxidativen Stress im Urin . . . . .	71
3.5.	Fragebögen . . . . .	74
3.6.	VOC-Emission . . . . .	78
3.6.1.	Substanzanalyse per GC-MS/MS . . . . .	78
3.6.2.	Aldehyde/Ketone per HPLC . . . . .	79
<b>4.</b>	<b>Diskussion</b>	<b>83</b>
4.1.	Entzündungsmarker im Nasensekret . . . . .	84
4.2.	Spirometrie . . . . .	85
4.3.	Exhalierendes Stickstoffmonoxid (FeNO) . . . . .	85
4.4.	Entzündungsmarker im Urin . . . . .	87
4.5.	Fragebögen . . . . .	88
4.6.	Expositionen . . . . .	89
4.7.	Mögliche gesundheitliche Konsequenzen . . . . .	90

4.8. Stärken & Limitationen der Studie . . . . .	91
<b>5. Fazit &amp; Ausblick</b>	<b>93</b>
<b>6. Zusammenfassung</b>	<b>95</b>
<b>7. Summary</b>	<b>97</b>
<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>98</b>
<b>Abbildungsverzeichnis</b>	<b>118</b>
<b>Tabellenverzeichnis</b>	<b>120</b>
<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>121</b>
<b>A. Anhang</b>	<b>125</b>
A.1. Datentabellen . . . . .	125
A.2. Fragebögen . . . . .	128
A.3. Publikation . . . . .	139



# 1. Einleitung & Theorie

Der 3D-Druck erfreut sich seit Jahren steigender Beliebtheit - bereits länger schon in der Industrie und nun auch vermehrt in Forschungseinrichtungen und im privaten Gebrauch. Additive Verfahren, die mit geschmolzenem Kunststoff arbeiten (Schichtdruckverfahren, FDM für *fused deposition modeling*), sind seit etwa 2010 für den Endverbraucher verfügbar.[1] Immer mehr Produkte werden für den Spielzeugmarkt beworben [2, 3] („Verwandle die Zeichnung deines Kindes in eine 3D-Figur“ [4]), und nicht nur die fertigen Plastikobjekte, sondern auch die 3D-Drucker selbst finden so den Weg ins Kinderzimmer.

Es ist bereits bekannt, dass eine andere Art von Druckern, Laserdrucker, ultrafeine Partikel (UFP) und volatile organische Substanzen (VOCs) emittieren, weshalb mögliche gesundheitliche Risiken für Anwender überprüft wurden.[5, 6] Untersuchungen von FDM-3D-Druckern ergaben, dass sowohl erhebliche Emissionen von UFP als auch VOCs entstehen können [7, 8, 9, 10, 11], welche jedoch stark vom Typ des verwendeten Kunststoffes abhängen.[12, 13, 14] Aufgrund dieser Emissionen könnten 3D-Drucker eine Gesundheitsgefährdung darstellen, insbesondere wenn sie ohne professionelle Sicherheitsmaßnahmen genutzt werden. Diese Annahme wird von Zellexperimenten gestützt, bei denen sich 3D-gedruckte Objekte verschiedener Kunststoffe toxisch auf sensible biologische Systeme auswirkten.[15, 16] Da sich Daten aus Zellversuchen und Tierstudien jedoch nicht eins-zu-eins auf reale menschliche Belastungen übertragen lassen [17], sind Expositionsstudien unerlässlich, um mögliche Risiken für Anwender einschätzen zu können. Obwohl Humanexpositionen vor allem in ihrer zeitlichen Länge eingeschränkt sind, können zumindest akute Effekte gemessen, als auch Hinweise für mögliche Auswirkungen längerer Expositionen gefunden werden.

Aus diesem Grund wurden in dieser Arbeit kontrollierte Expositionen 26 junger, gesunder Probanden gegenüber Emissionen eines 3D-Druckers durchgeführt, der mit zwei der am häufigsten eingesetzten Materialien druckte: Acrylnitril-Butadien-Styrol (ABS) und Polylactid (PLA). Der Vergleich dieser Substanzen ist deshalb so interessant, da in vorhergehenden, eigenen Messungen sowie in denen anderer Arbeitsgruppen, erhebliche Emissionsunterschiede bezüglich der Anzahl ultrafeiner Partikel beobachtet wurden.[9,

12, 13, 14, 18] Beide Materialien sind von einer Vielzahl von Herstellern leicht zu erwerben und können mit fast allen 3D-Druckern für den Privatanwender gedruckt werden.[19]

Die Beobachtungsparameter der Expositionsstudie deckten eine Reihe möglicher biochemischer Reaktionen ab und reichten von Nasensekret, exhaliertem Stickstoffmonoxid und Urinproben bis hin zu Syptomfragebogen und Lungenfunktion.

Um die Aussagekraft der Studie zu maximieren, wurde sie als randomisiertes, „Cross-over-Design“ geplant, bei der die Parametermessungen *vor*, *direkt nach* und *2-3h nach* der einstündigen Exposition erhoben wurden.

## 1.1. Ultrafeinstaub im Körper

### 1.1.1. Charakteristiken von Ultrafeinstaub

Feinstaub wird aus Sicht des Umweltschutzes in zwei Größenfraktionen unterteilt:  $PM_{10}$  und  $PM_{2,5}$  (PM für englisch *particulate matter*). Die tiefgestellte Zahl zeigt an, bei welchem aerodynamischen Durchmesser ( $D_{50}$ ) 50 % der Staubpartikel in einem Trägheitsabscheider (Impaktor) abgeschieden werden, was in etwa auch der Abscheidewirkung in den oberen Atemwegen entspricht.[20] Das bedeutet ein  $PM_{10}$ -Staub enthält zu 50 % Teilchen mit einem Durchmesser von  $10\ \mu\text{m}$  (mit einem höheren Anteil kleinerer Partikel und einem kleineren Anteil größerer Partikel - „S-Kurve“). Zur einfacheren Beschreibung kann in erster Näherung für die Staubfraktion  $PM_{10}$  die Summe aller vorkommenden Partikel mit einem Durchmesser von unter  $10\ \mu\text{m}$  angenommen werden.[21]

Staubfraktionen mit  $D_{50} = 0,1\ \mu\text{m}$  werden als *Ultrafeinstaub* bezeichnet. Ein  $PM_{0,1}$ -Staub besteht also hauptsächlich aus Nanopartikeln, d.h. Teilchen mit einem aerodynamischen Durchmesser von  $\leq 100\ \text{nm}$ . Generell hat sich durchgesetzt von *Nanopartikeln* zu sprechen, wenn es sich um bewusst hergestellte Nanomaterialien handelt. Bei nanoskaligen Partikeln, die in der Umwelt vorkommen oder bei Verbrennungsvorgängen entstehen und in die Umwelt gelangen (z.B. aus Autoabgasen oder als Reifenabrieb), wird der Begriff *Ultrafeinstaub* vorgezogen.[22]

Im Bereich der Arbeitsmedizin erfolgt die Unterteilung von Staub anhand von drei Fraktionen[21]:

**Einatembarer Staub** (E-Staub) „Massenanteil aller Schwebstoffe, der durch Mund und Nase eingeatmet wird“. Nach der Norm DIN EN 481 sind das Partikel  $\leq 100\ \mu\text{m}$  aerodynamischen Durchmessers.

**Thorakaler Staub** „Massenanteil aller Schwebstoffe, der durch Mund und Nase eingeatmet wird“. Entspricht der PM<sub>10</sub>-Fraktion aus dem Umweltschutzbereich.

**Alveolengängiger Staub** (A-Staub) „Der Massenanteil der eingeatmeten Partikeln, der bis in die nicht cilierten Luftwege vordringt“. Entspricht der PM<sub>4</sub>-Fraktion.

### 1.1.2. Exposition und Aufnahmewege

Seit jeher sind Menschen UFP ausgesetzt, denn diese entstehen bei jedem Verbrennungsvorgang. Früher waren die größten Quellen Waldbrände und Lagerfeuer - heute entstehen sie bei Verbrennungsprozessen in Autos, Flugzeugen, Kaminfeuern, Kohlekraftwerken sowie durch die Landwirtschaft.[23, 24, 25]

Die Wege, auf denen Nanopartikel in den Körper gelangen, haben sich mit der starken Zunahme von Produktion und Verkauf nanopartikelbasierter Produkte verändert. Seitdem Nanopartikel Kosmetika und pharmazeutischen Wirkstoffen zugesetzt werden, können sie oral und dermal aufgenommen oder injiziert werden. Doch der mit Abstand wichtigste Transportweg in den Körper ist die Inhalation von Stäuben, die oft nicht bewusst geschieht. Die große Lungenoberfläche birgt zudem das Potential einer starken Wechselwirkung zwischen Feinstaubpartikeln und Lungenzellen.[26]

Heutzutage halten sich die Menschen der Industrieländer die meiste Zeit des Tages in Innenräumen auf. Die aufgenommene Luft pro Minute  $A_{\min}$  [cm<sup>3</sup>min<sup>-1</sup>] errechnet sich aus dem Produkt des Tidalvolumens (Atemzugvolumen)  $V_{Tid}$  [cm<sup>3</sup>] mit der Respirationsfrequenz  $f_{\text{resp}}$  [min<sup>-1</sup>] (Ruheatmung). Beide Parameter sind vom Alter abhängig und nach Hofmann 1982 (S. 126)[27] ergibt sich:

$$A_{\min} = V_{Tid} \cdot f_{\text{resp}} = (21,7 + 35,15 \cdot a - 0,64 \cdot a^2) \cdot \left( \frac{15,17}{(0,25 \cdot a + 0,5)} + 11,75 \right) \quad (1.1)$$

Das bedeutet im Falle dieser Studie für gesunde junge Menschen ( $a = 25$  Jahre; Durchschnittsalter der Studie) pro Tag ein Volumen von  $V_{\text{Tag}} = 10 \text{ m}^3$ . Bei der allgemein bekannten Luftdichte am Boden  $\rho_{\text{Luft}} = 1,2041 \text{ kg m}^{-3}$  ergibt das eine Masse von ca. 12 kg pro Tag. Angesichts dieser Menge erscheint eine saubere Luftqualität umso wichtiger. In den nachfolgenden Kapiteln soll geklärt werden, wie inhalierte Luftschadstoffe, insbesondere Ultrafeinstaub, in der Lunge deponiert werden und dort wirken können.

### 1.1.3. Deposition in der Lunge

Abbildung 1.1 zeigt den schematischen Aufbau der menschlichen Lunge. Der sogenannte Bronchialbaum weist 23 Teilungen auf, wodurch eine Vergrößerung der effektiven Gasaustauschfläche um den Faktor 1000 erreicht wird.[28] Der Gasaustausch findet in den ca.  $3 \cdot 10^8$  Alveolen (Lungenbläschen) statt. Eine Alveole hat einen Durchmesser von 200 – 300  $\mu\text{m}$ , somit beträgt die Gesamtoberfläche aller Lungenbläschen ca.  $140 \text{ m}^2$ . Damit die Alveolen „aufgespannt“ bleiben können, wird ihre Oberflächenspannung durch ein lipidhaltiges Fluid, sogenanntes *Surfactant* (von *surface active agent*), herabgesetzt.[29]

Die Aufnahme von Substanzen in den Körper bei der Inhalation geht in drei Schritten vor sich: die *Ventilation* der Alveolen mit Luft, die *Diffusion* der Substanzen durch das Lungenepithel und die systemische Verfügbarkeit per *Perfusion* (Durchblutung). [29]

Die Ablagerungswahrscheinlichkeit von Partikeln in den menschlichen Atemwegen ist überwiegend von der Partikelgröße abhängig und von folgenden Mechanismen bestimmt [30, 31]:

- Interzeption (Filtration)
- Impaktion (durch Trägheit)
- Sedimentation (durch Gravitation)
- Konvektion
- Diffusion

Während größere Partikel (5 – 30  $\mu\text{m}$ ) oft schon im Nasenrachenraum abgefangen werden (Interzeption, Impaktion), können kleinere (1 – 5  $\mu\text{m}$ ) in den Tracheobronchialbaum getragen werden (vgl. Abbildung 1.2), wo schwerere Partikel sedimentieren. In noch tiefere Regionen, die Alveolen, können Fein- und Ultrafeinstaubpartikel ( $< 1 \mu\text{m}$  bzw.  $< 0,1 \mu\text{m}$ ) gelangen.[26] Der Diffusionskoeffizient von Nanopartikeln ist zwar wesentlich (Faktor 2-3) größer als derjenige von Mikrometergroßen Partikeln, jedoch noch wesentlich kleiner (Faktor 5-6) als der Diffusionskoeffizient von Atemgasen (Sauerstoff, Kohlenstoffdioxid). Entgegen der Annahme, dass Diffusion der wichtigste alveolare Transportmechanismus sei, ist es die Konvektion, die die Partikel bis an die Alveolaroberfläche trägt. Durch Diffusion ist ein Weitertransport der Partikel durch die Lungenoberfläche in tiefer liegendes Gewebe möglich, wo sie in Lymphbahnen migrieren und in Blutgefäße gelangen können. Dies ermöglicht die systemische Verfügbarkeit der Partikel und Translokation per Blutstrom, sowie die Anhäufung in Organen (Akkumulation).[32, 33]

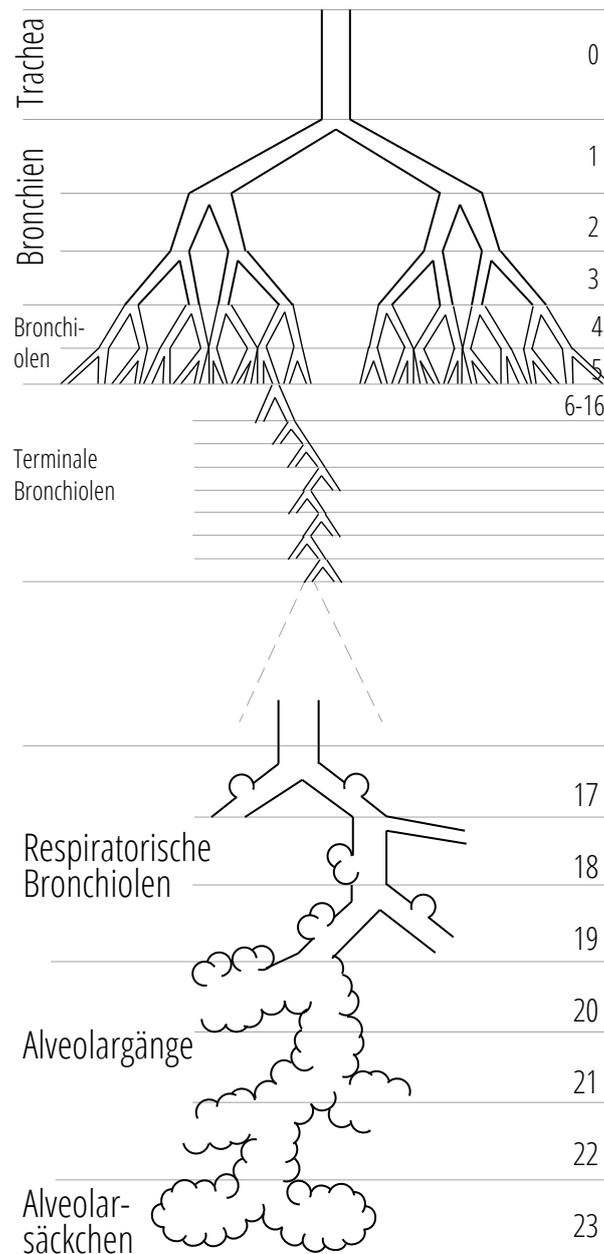


Abbildung 1.1.: Schematische Darstellung des Bronchialbaums. Die Luftröhre (Trachea) verzweigt sich gleichmäßig ca. 16mal in die sogenannten Bronchien. Diese verdoppeln sich in jeder der sechs weiteren Teilungen in die Alveolengänge, die wiederum in den terminalen Alveolen (Alveolarsäckchen) enden. Der Gasaustausch findet in den ca.  $3 \cdot 10^8$  Alveolen statt. Nach Davies & Moores 2017 (S. 49).[34]

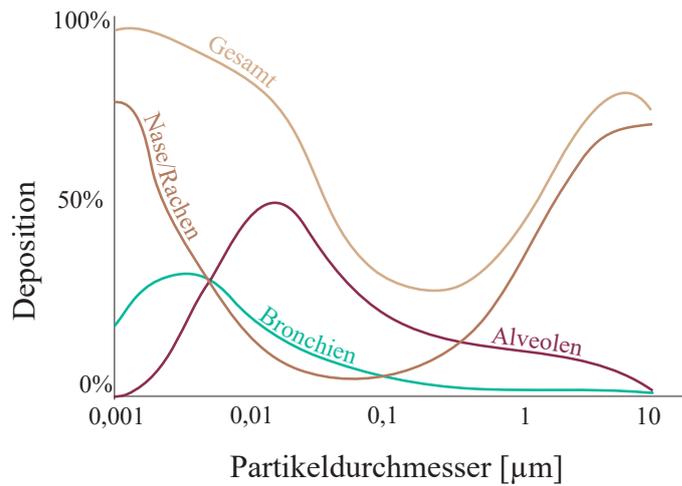


Abbildung 1.2.: Regionale Deposition in Abhängigkeit von der Partikelgröße. Größere Partikel ( $1 - 10 \mu\text{m}$ ) werden in den oberen Atemwegen (Nase, Rachen) abgeschieden. Das Depositionsminimum liegt bei Partikeln mit einem Durchmesser von  $0,1 - 1 \mu\text{m}$ , d.h. über 50 % dieser Partikel werden wieder ausgeatmet. Die Depositionswahrscheinlichkeit für die Region der Alveolen steigt bei Partikeln mit einem Durchmesser  $\leq 100 \text{ nm}$  ( $0,1 \mu\text{m}$ ) enorm an. Da sich dieser Bereich der mukoziliären Clearance (vgl. Kapitel 1.1.4) entzieht, verbleibt ein Großteil der deponierten Partikel und kann durch Diffusion in tiefer liegendes Gewebe dringen. Nach Geiser & Kreyling 2010 (S. 8).[33]

#### 1.1.4. Clearance

Der Reinigungsmechanismus, der die Bronchien von unerwünschten Fremdkörpern und Mikroorganismen befreit, wird *mukoziliäre Clearance* (Reinigung) genannt.[30] Abbildung 1.3 zeigt, wie Partikel am Mucus (Schleim), der von sogenannten Becherzellen produziert wird und die oberen Atemwege bedeckt, haften bleiben und von Zellen des Immunsystems (Makrophagen) phagozytiert werden können.[35]

Die Epithelzellen der Lungenschleimhaut können mit der simultanen Bewegung ihrer Zilien (Flimmerhärchen) den Mucus in Richtung Pharynx (Rachen) bewegen, wo er abgehustet oder geschluckt und durch den Gastrointestinaltrakt ausgeschieden werden kann.[36] Ist dieser Schleimtransport gestört (z.B. durch Zigarettenrauch, Kälte, Krankheit), können Fremdkörper wie z.B. Mikroorganismen nicht mehr entfernt werden, und es kann zu einer Infektion kommen. Wasserlösliche Partikel werden am Flüssigkeitsfilm (Surfactant) oder in der Schleimschicht inaktiviert. Die relativ langsame alveoläre Clearance (mit ca. 500 Tage Halbwertszeit [37]) bewirkt eine lange Verweildauer von ultrafeinen Partikeln.

Neben der Größe der ultrafeinen Partikel hängt die Clearance auch von deren Form ab. Insbesondere faserartige Strukturen können nicht vollständig von den Makrophagen umschlossen und abtransportiert werden. Sie bewirken so eine chronische Entzündungsreaktion, die in einer Vernarbung des Gewebes und in einer Fibrose enden kann. Bei einer Fibrose versteift ein Teil des Lungengewebes, die Dehnbarkeit der Lunge (Compliance) sinkt, und weniger Gewebe steht zum Gasaustausch zur Verfügung. Als prominentes Beispiel sind hier die Auswirkungen von Asbeststaub zu nennen, zu dessen verheerenden Folgen Asbestose und Lungenkrebs zählen.[38] Die 20 – 200  $\mu\text{m}$  langen Fasern entziehen sich teilweise dem Clearance-Mechanismus und können bis in das Interstitium vordringen, wo sie kumulieren können. Schon geringe Mengen Asbeststaub können so zu Mesotheliomen führen (Tumore in der Pleura).[38, 39] Der gleiche Mechanismus betrifft auch einige der Kohlenstoffnanoröhren (CNT für *carbon nanotubes*). Diese sind, ebenso wie Asbestfasern, zu groß, um von Makrophagen vollständig umschlungen zu werden, und lösen so eine permanente Entzündungsreaktion aus.[40]

Die Oberfläche der Partikel spielt eine ebenso entscheidende Rolle. Das Verhältnis von Oberfläche-zu-Volumen ist bei nanoskaligen Partikeln sehr hoch. An der Partikeloberfläche anhaftende organische Substanzen, Proteine und Endotoxine können entzündliche Prozesse auslösen, da sie die Immunzellen (Makrophagen) zur Bildung entzündungsfördernder Zytokine anregen.[30]

Ist das Gleichgewicht zwischen der Bildung und dem Abbau reaktiver Sauerstoffspezies (ROS von *reactive oxigen species*) gestört, spricht man von oxidativem Stress. Dieser kann durch exogene Ursachen, wie ionisierende Strahlung, Zigarettenrauch und Chemikalien, ausgelöst werden. Eine erhöhte Produktion von ROS und freien Radikalen kann zu Proteinoxidation, Lipidperoxidation und DNA-Defekten führen. Derartige oxidative Schäden werden mit vielen Krankheiten in Verbindung gebracht, darunter Fibrose, Atherosklerose, Diabetes, sowie der Pathogenese von verschiedenen Krebsarten.[41, 42] In Kapitel 1.5.1 wird beschrieben, mit welcher Methode ein möglicher oxidativer Stress in dieser Studie untersucht wurde.

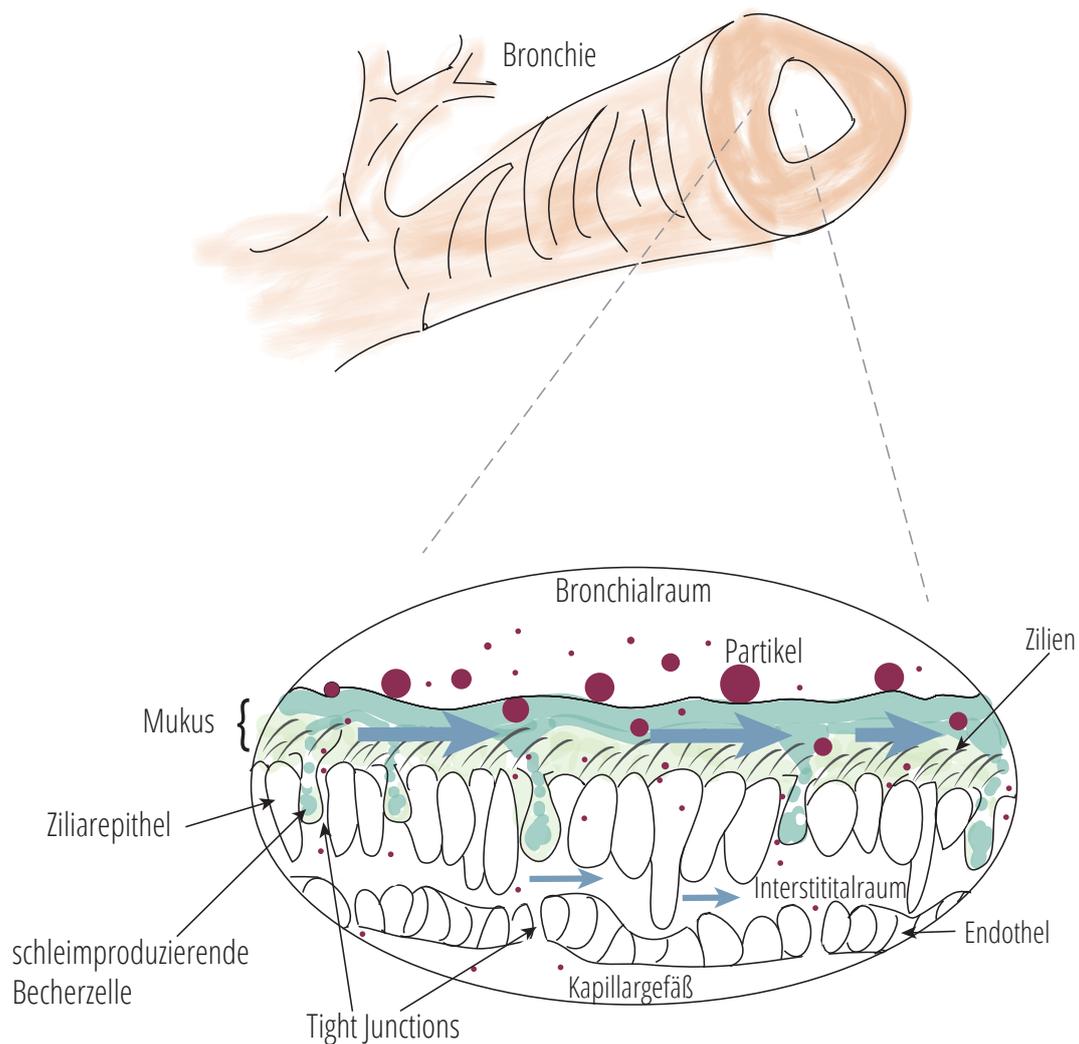


Abbildung 1.3.: Aufbau der Lungenschleimhaut mit mucusproduzierenden Becherzellen und Flimmerepithel. Partikel bleiben am Mucus haften und werden durch synchronisierten Schlag der Zilien (Flimmerhärchen) in Richtung Pharynx (Rachen) abtransportiert. Kleinere, nanoskalige Partikel können sich der mukoziliären Clearance entziehen und durch Transzytose in Epithelzellen und weiter vordringen. Im Interstitium können die Partikel Richtung Lymphknoten transportiert werden. Obwohl Tight Junctions (Diffusionsbarrieren im Zellzwischenraum) normalerweise eine gute Barriere für Nanopartikel darstellen, wurde beobachtet, dass diese während einer entzündlichen Situation (wie z.B. bei Endotoxinexposition) durch geweitete Tight Junctions dringen können.[43] Nach Oberdörster et al. 2005 (S. 832)[22] und Rhoades & Pfanzer (1992, zitiert nach Hinghofer-Szalkay[44])[45].

## 1.2. Messmetriken für Partikelmessungen

Traditionell wird Staub in den Einheiten Partikelanzahlkonzentration oder in Masse pro Luftvolumen angegeben. Im Fall eines faserförmigen Materials, z.B. Asbest oder CNT, bietet sich die Partikelanzahlkonzentration als effektivste Metrik an. Wie bereits beschrieben, sind die Fasern zu groß, um von den Macrophagen verdaut zu werden. Da jede Faser mindestens einen Makrophagen außer Gefecht setzen kann, beschreibt die Faser- bzw. Partikelanzahl in diesem Fall die biologisch relevante Dosis am besten.[46]

Wie man der größenabhängigen, regionalen Deposition in Grafik 1.2 entnehmen kann, steigt die Depositionswahrscheinlichkeit für Partikel unter 100 nm enorm an. Allerdings macht diese  $PM_{0,1}$ -Fraktion nur einen geringen Teil der gemessenen Gesamtmasse des Aerosols aus. Ein Teilchen der Größe 300 nm beispielsweise, wiegt 1000mal mehr als eines mit 30 nm Durchmesser (Annahmen: kugelförmig, gleiche Dichte) - die Wahrscheinlichkeit, dass es deponiert wird, ist jedoch wesentlich geringer. Für die Untersuchung gesundheitlicher Auswirkungen von Partikelexposition ist es also wichtig, die *deponierten* Partikel zu messen. Mehrere Studien beobachteten eine erhöhte Toxizität von nanoskaligen gegenüber mikroskaligen Partikeln [47, 48, 22, 46, 49], die auf deren große Gesamtoberfläche zurückzuführen ist, mit der sie mit dem Lungenepithel in Wechselwirkung treten können. Folglich wird die *lungengängige Partikeloberfläche* LDSA (für *lung deposited surface area*) als Metrik der Wahl vorgeschlagen, um Messungen verschiedener Aerosole, sowohl in *in vitro*- als auch in *in vivo*-Experimenten, in Bezug auf deren gesundheitlichen Effekte vergleichen zu können. Die LDSA in  $\mu\text{m}^2 \text{cm}^{-3}$  setzt sich folgendermaßen zusammen:

$$LDSA = \text{Oberfläche} \cdot \text{Depositionswahrscheinlichkeit}$$

## 1.3. Additive Fertigungsverfahren (3D-Druck)

Der Begriff *additives Fertigungsverfahren* (englisch *additive manufacturing*) bezieht sich auf eine Herstellungsweise, bei der Material nach und nach hinzu gegeben wird, um ein Objekt entstehen zu lassen. Der Vorteil von additiven Verfahren, im Gegensatz zu subtraktiven Verfahren wie z.B. bei einem Bildhauer, wird bei komplizierten Strukturen sichtbar: so würde sich ein Bildhauer schwer tun, feine Belüftungskammern in das Innere eines Objektes zu integrieren. Mit Hilfe additiver Fertigungsverfahren lassen sich jedoch auch komplizierte Strukturen leicht realisieren. Unter dem Begriff werden alle „hinzufügenden“ Verfahren zusammengefasst; sie reichen von Lasersintern mit Metallpulver über den Schichtdruck mit Hartplastik bis hin zur Stereolithographie mit Flüssigharz. Eine umfassende Übersicht über viele Verfahren und deren spezifische Materialien haben Ligon et al. 2017 [50] zusammengestellt. Unter den Begriff *3D-Druck* fallen zwar generell alle additiven Fertigungsverfahren, allerdings wird dieser oft mit den sogenannten *Desktop-3D-Druckern* in Verbindung gebracht, die in der Größenordnung eines normalen Druckers liegen und somit auf einem Schreibtisch (Desktop) Platz finden.

### 1.3.1. Schichtdruckverfahren für den Privatanwender

Die meisten 3D-Drucker für den Privatgebrauch funktionieren per Schichtdruckverfahren (FDM für *fused deposition modeling*, alternativ FFF für *fused filament fabrication*), bei dem ein harter Plastikfaden (Filament) in einem beweglichen Druckkopf geschmolzen wird und damit ein zweidimensionales Bild gelegt wird. Durch die absenkbare Druckplatte können diese zweidimensionalen Bilder nun gestapelt werden, sodass ein dreidimensionales Objekt entsteht (siehe Abbildung 1.4).

Dieses Verfahren wird zu den additiven Fertigungsverfahren gezählt und hat die Vorzüge, im Gegensatz zum herkömmlichen Verfahren mit Gussformen, viel weniger Ausschuss zu produzieren, da jede Geometrie direkt gedruckt werden kann.

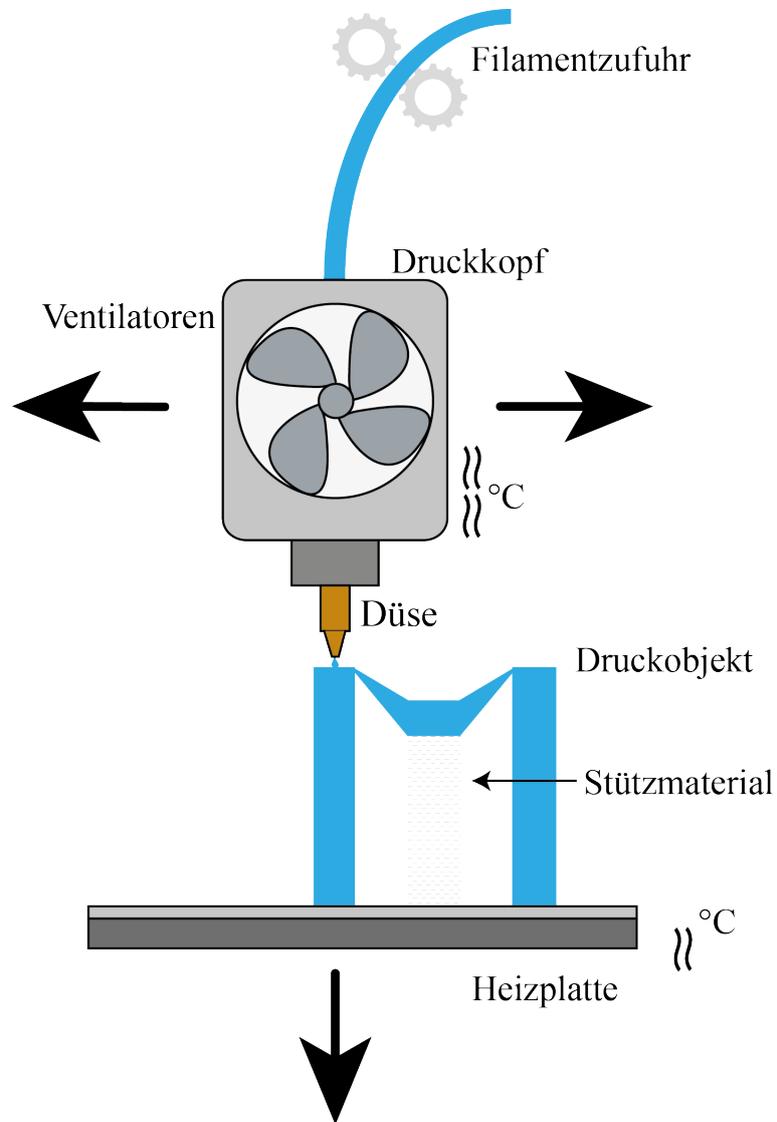


Abbildung 1.4.: 3D-Druck per FDM Verfahren. Beheizte Elemente wurden mit  $\approx$  gekennzeichnet. Nach Horsch 2013.[51]

### 1.3.2. Filamente für das Schichtdruckverfahren

Beim Schichtdruckverfahren wird ein dicker Kunststoffaden (Filament) im Druckkopf geschmolzen und Schicht für Schicht aufeinander gelegt. Dabei soll er sich gleichmäßig abkühlen und mit den angrenzenden Schichten verbinden. Die Anforderungen an einen Kunststoff sind daher vielfältig. Er sollte folgende Eigenschaften besitzen:

- eine geeignete Schmelztemperatur, idealerweise in einem Bereich von mehreren  $\pm 10$  °C, damit Schwankungen der Temperatur im Druckkopf keine Auswirkungen haben.
- einen kleinen Ausdehnungskoeffizienten, um Verzerrungen aufgrund ungleicher thermischer Kontraktion beim Abkühlen (engl. *warping*) zu minimieren.
- einen passenden Elastizitätskoeffizienten, sodass das Druckobjekt ausreichende Stabilität aufweist, das Filament jedoch nicht leicht brechen kann.
- Des weiteren bevorzugen Hersteller einen Kunststoff, der leicht einfärbbar und billig in der Herstellung ist.

Mittlerweile befinden sich verschiedenste Kunststoffe für den FDM-Druck auf dem Markt - von flexiblen Nylon bis lebensmittelechtem PET.[52]

Die zwei am häufigsten verwendeten Materialien im Bereich der Privatanwender sind derzeit

- Acrylnitril-Butadien-Styrol (ABS)
- Polylactid (PLA)

ABS ist in allen Bereichen der Industrie sowie im täglichen Leben weit verbreitet und viele robuste Plastikteile sind daraus gefertigt - vom Autoarmaturenbrett bis hin zum Legostein. Neben dem günstigen Preis zeichnet es sich durch seine gute Thermostabilität aus, und ferner der Möglichkeit, die gedruckte Oberfläche, z.B. mit Aceton, nachträglich zu glätten. Allerdings muss ABS bei einer hohen Temperatur (215 – 250 °C) gedruckt werden, ebenso ist ein beheizbares Druckbett von Vorteil, um ein Verziehen während der Abkühlung zu verhindern.

PLA zählt zu den Biorohkunststoffen, da es aus erneuerbaren Rohstoffen (u.a. Maisstärke) gewonnen wird. Für das fertige 3D-Druckfilament werden Additive hinzugefügt, welche Farbe und Biogsamkeit bestimmen. PLA kann bei etwas geringeren Temperaturen (160 – 220 °C) gedruckt werden, allerdings zieht dies auch eine verminderte Haltbarkeit und Stabilität nach sich. Die gute Haftung auf der Druckoberfläche, die keine zusätzliche Beheizung erfordert, macht PLA zu einem einfach zu druckenden Material.[53]

Schon anhand weniger Partikelmessungen, die vorangehend zu dieser Studie an verschiedenen 3D-Druckern durchgeführt wurden, wurde ersichtlich, dass sich ABS und PLA in ihrer Partikelemission stark unterscheiden. Diese Beobachtung wurde von anderen Studien bestätigt.[18, 11, 54] Da sich die Materialien verschiedener Hersteller durch die Beisetzung unbekannter Additive unterscheiden, sind jedoch keine spezifischen Vorhersagen des Emissionsverhaltens verschiedener Filamente möglich.

## 1.4. Stand der Forschung

### 1.4.1. Gesetzliche Regelungen

Die Gesundheitsgefährdungen von Staub sind seit langem bekannt. In der Europäischen Union wurde 1980 erstmals ein Grenzwert für „Schwebestaub“ festgelegt [55]. Generell wird in Deutschland zwischen Arbeits- und Umweltschutz unterschieden. Die gesetzlich verbindlichen Grenzwerte werden vom Ausschuss für Gefahrstoffe (AGS) festgelegt, welcher vom Bundesministerium für Arbeit und Soziales (BMAS) berufen wird. Darüber hinaus hält die MAK-Kommission (Ständige Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe ) der deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) einen beratenden Status inne und gibt Vorschläge für (unter anderem) maximale Arbeitsplatzkonzentrationen (MAK-Werte).[56]

Der seit 2015 geltende Grenzwert für die  $PM_{2,5}$ -Fraktion im Umweltschutz liegt bei  $25 \mu\text{g m}^{-3}$  als Jahresmittelwert[57] und soll bis 2020 auf  $20 \mu\text{g m}^{-3}$  herabgesetzt werden.[58] Bei den Arbeitsplatzgrenzwerten (AGW) wird zwischen *E-Staub* (einatembare Fraktion) und *A-Staub* (alveolengängige Fraktion) unterschieden, siehe Abbildung 1.5. Seit 2006 bestimmt die Technische Regel für Gefahrstoffe 900 (TGRS) den AGW als Mittel über eine 8-stündige Arbeitsschicht für E-Staub auf  $10 \text{mg m}^{-3}$  und für A-Staub auf  $3 \text{mg m}^{-3}$ . [57] Hier ist darauf hinzuweisen, dass beide Werte ausdrücklich nicht für ultrafeine Partikel gelten.[59] Die Grenzwerte werden kontrovers diskutiert, da diese sich nur auf das

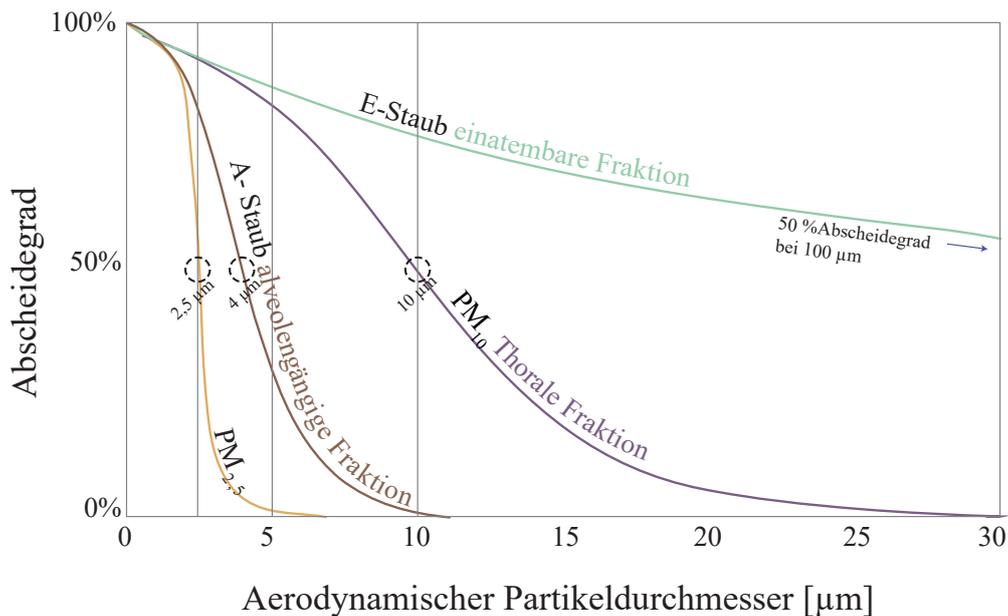


Abbildung 1.5.: Konventionen definierter Staubfraktionen in Deutschland. Im Arbeitsschutz wird zwischen E- und A-Staub unterschieden (siehe Kapitel 1.1.1). Zur Emissionsmessung im Umweltschutz dienen die PM Fraktionen. Nach Mattenklott & Höfert 2009.[21]

Gewicht pro Volumen beziehen und somit eine stärkere Gewichtung von größeren Partikeln vorliegt. Es sind jedoch gerade kleinere Partikel, die vermehrt deponiert werden (siehe dazu Abbildung 1.2 in Kapitel 1.1.3), zusätzlich durch ihr hohes Oberfläche-zu-Masse-Verhältnisses besonders stark mit Zellen in Wechselwirkung treten, sowie sich der mukoziliären Clearance entziehen können.[22, 60]

Ein weiterer Marker für die Luftqualität ist der Gehalt von flüchtigen organischen Verbindungen (VOC von *volatile organic compound*). Die aktuellen Grenzwerte vieler internationaler Staaten können in der GESTIS Datenbank (Gefahrstoffinformationssystem) auf der Webseite des Instituts für Arbeitsschutzes (IFA) der deutschen gesetzlichen Unfallversicherung (DGUV) abgerufen werden.[59] Falls vorhanden, werden hier die verbindlichen AGW des AGS, sowie die Vorschläge der MAK-Kommission als Richtwerte angegeben.

Da für private Innenräume, die nicht in den Arbeitsplatzbereich fallen, keine Grenzwerte nach der Gefahrstoffverordnung existieren, ermittelt der Ausschuss für Innenraumrichtwerte des Umweltbundesamtes (UBA) Richtwerte für die Innenraumluft.

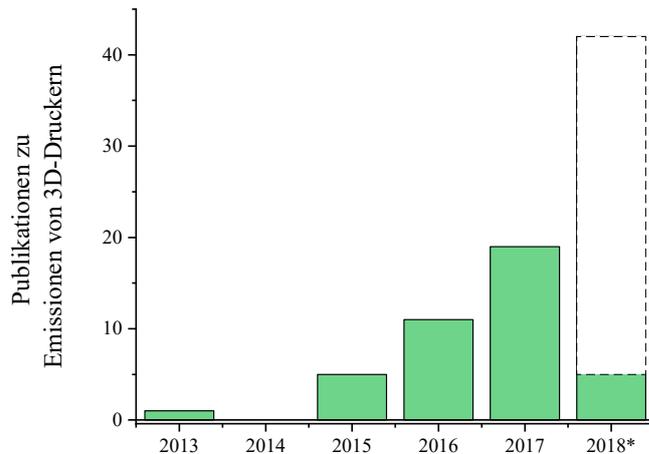


Abbildung 1.6.: Zeitliche Entwicklung der Anzahl wissenschaftlicher Veröffentlichungen (inkl. Konferenzbeiträge und Leserbriefe „Letter to the editor“) zu den Schlagwörtern „3D printer“, „Emissions“, „UFP“, „Health“. \* Anzahl der Publikationen bis zum Zeitpunkt dieser Arbeit und Hochrechnung für das ganze Jahr 2018 (gestrichelte Linie).

Für Feinstaub in der Innenraumluft hat das UBA 2008 einen Leitwert von  $25 \mu\text{g m}^{-3}$  für  $\text{PM}_{2,5}$  (24-h-Mittelwert) festgelegt. Außerdem werden Leitwerte für die Summe aller VOCs (TVOC für *total volatile organic compounds*) und deren Einstufung in 5 Stufen von  $\leq 0,3 \text{ mg m}^{-3}$  für „hygienisch unbedenklich“ bis  $\geq 10 \text{ mg m}^{-3}$  für „hygienisch inakzeptabel“ empfohlen.[61]

#### 1.4.2. Ultrafeinstaub aus 3D-Druckern

Im Jahr 2013 wurde die erste Analyse zu UFP-Emissionen von Desktop-3D-Druckern (FDM-Verfahren) von Stephens et al. [18] veröffentlicht. In einem Zeitungsartikel dazu stellte er damals schon die Frage „Could particle emissions from desktop 3D printers reach unhealthy levels?“, also ob Partikelemissionen aus 3D-Druckern gesundheitliche Relevanz haben können.[62] Ein Jahr verging, bis 2015 die ersten weiteren Veröffentlichungen zum UFP- und VOC-Ausstoß erschienen.[11, 7, 63] Die Zunahme der Anzahl der Publikationen zu Emissionen von 3D-Druckern ist in Abbildung 1.6 dargestellt.

Die zunehmende Verbreitung von 3D-Drucker in Instituts-, Schul- und Privaträumen ließ das Interesse an deren Emissionen steigen, sodass 2016 einige Studien mit Analysen

verschiedener Druckmaterialien sowie Zeitungsartikel über diese Emissionen veröffentlicht wurden.[64, 14, 9, 8, 65, 66, 67, 68, 69]

Im Jahr 2017 fragten auch Wojtya et al. „Is 3D printing safe?“. [13] Doch nicht nur die Emissionen während des Druckes könnten ein gesundheitliches Risiko bergen. So wiesen Oskui et al. [15] 2016 außerdem eine toxische Wirkung der fertigen Druckobjekte auf Zebrafischembyos nach. Sie verglichen dabei Objekte, die per FDM-Verfahren mit ABS gedruckt wurden, mit solchen, die per Stereolithographie (STL) produziert wurden. Dabei wird ein flüssiges, mit Chemikalien versetztes Harz punktgenau mit einem Laserstrahl gehärtet. Am Objekt haftende Substanzen waren eventuell der Hauptauslöser für die extrem toxische Wirkung auf die Fischembryonen. Doch trotz der viel höheren Toxizität der STL-Druckobjekte ist eine Wirkung der ABS-Drucke ebenso bedenklich, da fast jeder 3D-Drucker (FDM) für deren Verwendung geeignet ist.[15, 16] Denkbar wäre eine Exposition von Kindern, deren Spielzeug frisch aus dem 3D-Drucker kommt und eventuell mit deren Schleimhäuten in Kontakt kommen kann.

Neben zahlreichen weiteren Studien zu den UFP- und VOC-Emissionen von 3D-Druckern [10, 12, 13, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 54, 76, 77, 78, 79, 80] folgte 2017 das erste jährliche Treffen zum Thema „Safety Science of 3D-Printing“ in Atlanta [81], was zeigt, wie die Wahrnehmung über mögliche gesundheitliche Risiken zunimmt. Außerdem wurden 2017 erstmals Tierversuche mit Emissionen aus 3D-Druckern durchgeführt, welche einen blutdrucksteigernden Effekt feststellten, der durch weitere Studien bestätigt werden soll.[82, 83] Die mögliche Toxizität von 3D-Drucker-Polymeren wurde in Zellexperimenten untersucht, und der verantwortungsvolle Umgang, vor allem eine korrekte Entsorgung, wird diskutiert, um eine Kontamination der Umwelt zu verhindern.[84][85] Daten aus Tierexperimenten oder Zellversuchen lassen sich allerdings nur schwer auf humane Expositionsszenarien übertragen. Unseres Wissens nach wurden noch keine humanen Expositionsdaten erhoben, weshalb diese Studie als Pilotstudie konzipiert wurde, um eine Einschätzung über mögliche gesundheitliche Effekte treffen zu können. Sie wurde im Februar 2018 im Journal INDOOR AIR publiziert (für weitere Informationen siehe Anhang A.3).[86] Da jede Filament-3D-Drucker-Kombination unterschiedliche Emissionen verursacht, werden weiterhin Studien dazu veröffentlicht.[87] Bei zukünftigen Analysen ist auf die Vergleichbarkeit der Daten mit vorherigen Studie zu achten, ebenso auf die Verwendung mehrerer Messmetriken wie Partikelanzahl und LDSA, um mögliche Gesundheitsrisiken besser abschätzen zu können.

## 1.5. Expositionsstudie

Diese Expositionsstudie erfasste Kurzzeiteffekte von Emissionen aus einem handelsüblichen 3D-Drucker an freiwilligen, gesunden Probanden. Verschiedene Gesundheitsparameter wurden vor und an zwei Zeitpunkten nach der Exposition gegenüber Druckemissionen mit zwei verschiedenen Materialien erhoben.

Im Folgenden wird die Auswahl der biochemischen Entzündungsmarker, die im Nasensekret, im Urin und in der Ausatemluft gemessen wurden, vorgestellt.

### 1.5.1. Entzündungsmarker im Urin

#### Oxidativer Stress

Oxidativer Stress ist eine Stoffwechsellage, bei der die Konzentration von *freien Sauerstoffradikalen* das physiologische Maß überschreitet und somit eine Verschiebung des Fließgleichgewichtes herrscht:

$$\text{Oxidantien} > \text{Antioxidantien}$$

Diese sogenannten *reaktiven Sauerstoffspezies* (ROS für *reactive oxygen species*) werden sowohl bei normalen, physiologischen Prozessen im Körper freigesetzt, entstehen aber auch durch toxische Umwelteinflüsse (ionisierende- und UV-Strahlung, Stickoxide, Feinstaub, Ozon, Nanopartikel).[88] Ferner werden sie von Immunzellen wie Makrophagen, Eosinophilen und Neutrophilen als Antwort auf eindringende Mikroorganismen, aber auch auf beispielsweise Rußpartikel, gebildet. ROS wiederum aktivieren die Expression proinflammatorischer Zytokine, die chronische Entzündungsvorgänge zur Folge haben kann.[89, 57]

ROS können verschiedene Effekte im Organismus hervorrufen:

- DNA-Schäden
- Proteinoxidation
- Lipidperoxidation

Um oxidativen Stress im Organismus nachzuweisen, lässt sich entweder der Gehalt an ROS, oder die Menge an Antioxidantien, oder eine der eben genannten Schädigungen

analysieren. Für letzteres existieren Methoden zur Analyse verschiedener Marker im Blut, Zellgewebe und Urin. Eine umfassende Übersicht über die jeweiligen Marker, deren Probenmaterial, sowie die empfohlene Bestimmungsmethode findet sich im Bericht des Robert Koch-Instituts von 2008 [89]. Dieser Bericht empfiehlt unter anderem auch die Verwendung von Isoprostanen in Urin und Plasma als *in vivo*-Marker für oxidative Lipidschädigung, welcher in dieser Studie verwendet wurde und im folgenden Kapitel beschrieben wird.

### ***8-iso-PGF<sub>2α</sub>***

Isoprostane sind Biomarker, über deren Konzentration in Blut und Urin sich die, durch oxidativen Stress ausgelöste, Lipidperoxidation (oxidative Degradation von Lipiden) bestimmen lässt. Ein Bestandteil von Lipiden, in diesem Fall Phospholipiden der Zellmembran, ist Arachidonsäure, die auf zwei verschiedene Wege abgebaut werden kann, siehe Abbildung 1.7.

Isoprostane entstehen durch einen nicht-enzymatischen Abbaupfad der Arachidonsäure, der von freien Radikalen induziert wird, welche bei der Reaktion ein Elektron von der Arachidonsäure annehmen. Die Gruppe der F<sub>2</sub>-Isoprostane besteht aus 64 Isomeren. Das am besten untersuchte und als *in vivo*-Biomarker für oxidativen Stress eingesetzte Isomer *8-iso-Prostaglandin F<sub>2α</sub>* (alternativer Name: 15-F<sub>2t</sub>-IsoP) wurde in dieser Studie im Urin bestimmt, um den durch die Druckeremissionen möglicherweise ausgelösten oxidativen Stress zu ermitteln.

Es besteht die Möglichkeit, *8-iso-Prostaglandin F<sub>2α</sub>* (*8-iso-PGF<sub>2α</sub>*) per Fluoreszenz-Enzym-Immunoassay (ELISA für *enzyme-linked immunosorbent assay*) zu analysieren[90], allerdings können aufgrund der großen Anzahl an Isomeren Kreuzreaktivitäten nicht ausgeschlossen werden, was eine Überschätzung der *8-iso-PGF<sub>2α</sub>*-Konzentration zur Folge hätte. Deshalb gilt eine massenspektrometrische Analyse als „Goldstandard“-Methode.[91] Aus diesem Grund wurde für diese Studie eine Methode zur Bestimmung von *8-iso-PGF<sub>2α</sub>* im Urin per Gaschromatografie mit Tandemmassenspektrometer (GC-MS/MS) etabliert, siehe Kapitel Methoden 2.6.

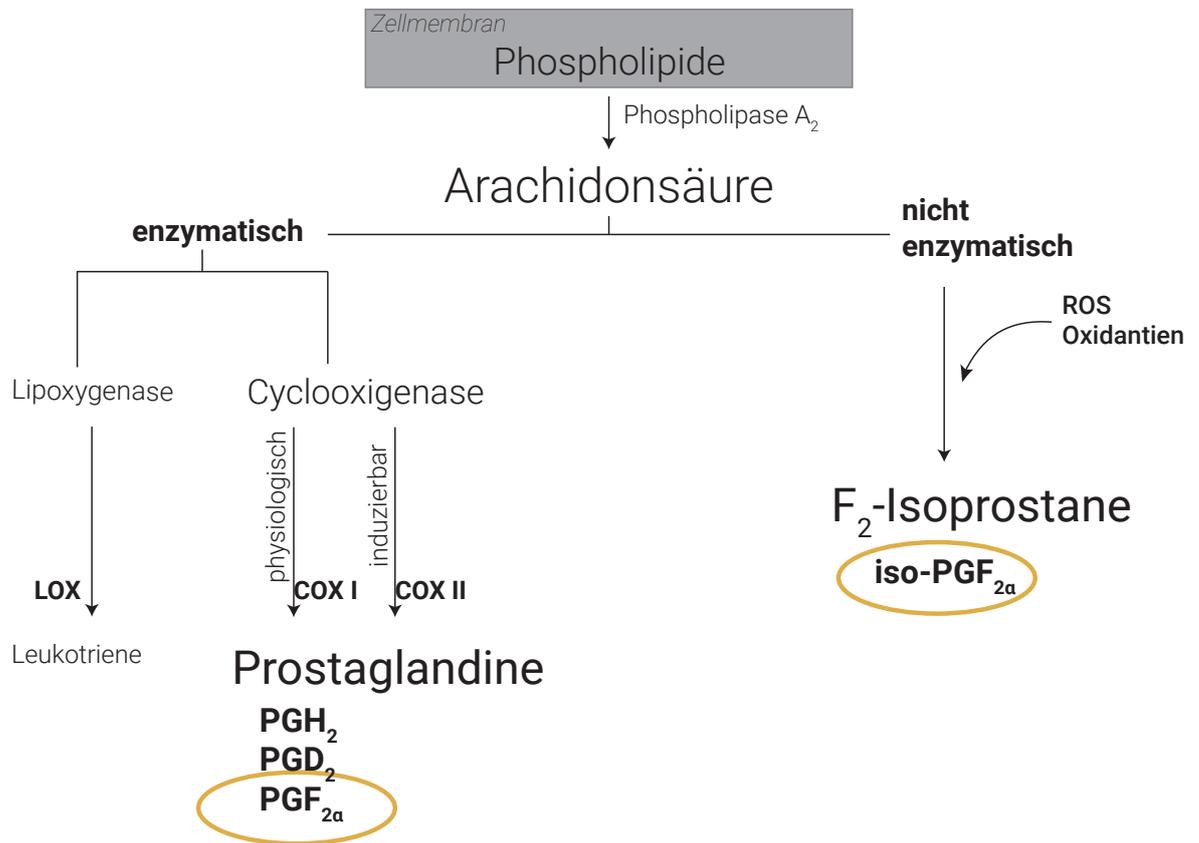


Abbildung 1.7.: Schematische Darstellung des Abbaus von Prostaglandinen und Iso-  
prostanen aus der Arachidonsäure. Ein enzymatischer und ein nicht-  
enzymatischer, durch freie Radikale induzierter Pfad sind möglich. Teile  
aus Mannello et al. 2007 (S. 1975)[92] und Cavalcante & de Bruin 2009  
(S. 1231)[93].

## 1.5.2. Entzündungsmarker im Nasensekret

### Zytokine im Nasensekret

Zytokine sind Proteine, die die Zellaktivierung steuern und wichtige Mediatoren des Immunsystems bei Entzündungsprozessen darstellen. Zytokine werden in fünf Untergruppen eingeteilt, welche im Folgenden kurz vorgestellt werden [29, 36, 94, 95]:

**Interleukine** dienen als Botenstoffe zwischen Immunzellen (Leukozyten, Makrophagen etc.) und können sowohl pro- als auch anti-inflammatorisch wirken.

**Interferone** vermitteln hauptsächlich die Immunantwort auf virale Infektionen. Dem Typ II-Interferon (Interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ ) steht ein weiterer Aufgabenbereich zu (siehe unten).

**Koloniestimulierende Faktoren** regulieren das Wachstum von roten und weißen Blutkörperchen sowie die Reifung von Stammzellen im Knochenmark und stellen somit wichtige Faktoren für das Immunsystem dar. Der GM-CSF (für *granulocyte macrophage colony-stimulating factor*) ist insbesondere in der Lunge an der Aktivierung alveolärer Makrophagen und deren Expression von ROS, sowie deren Interaktion mit Oberflächenproteinen beteiligt. Im Laufe einer allergischen Entzündung ist er für die Aktivierung von Eosinophilen verantwortlich.

**Tumornekrosefaktoren** sind Oberflächenproteine, die von Immunzellen freigesetzt werden, als Signalstoff während einer Immunantwort bei Entzündungen dienen und unter anderem die Bildung von Akute-Phase-Proteinen triggern. Sie wirken zudem zytotoxisch auf Krebszellen und migrationsfördernd auf neutrophile Granulozyten.

**Chemokine** wirken als chemische „Lockstoffe“, die durch ihren Konzentrationsgradienten (Chemotaxis) die Zellenmigration von Immunzellen auslösen.

Generell gibt es pro-inflammatorisch wirkende Zytokine, die die Immunzellen anregen und z.B. Fieber auslösen, sowie anti-inflammatorisch wirkende Zytokine. Aus Zellversuchen gibt es Hinweise, dass die Freisetzung von pro-inflammatorischen Zytokinen von nasalen Epithelzellen durch Feinstaub, insbesondere Nanopartikel ausgelöst werden kann. [96, 97, 88]

Folgende vier Zytokine wurden in dieser Studie im Nasensekret analysiert:

**Interleukine IL-1 $\beta$  und IL-6** Die Interleukine IL-1 $\beta$  und IL-6 zählen zusammen mit IL-8, TNF- $\alpha$  und MIP-1 $\alpha$  (macrophage inflammatory protein-1 $\alpha$ ) zu den wichtigsten pro-inflammatorischen Zytokinen und werden bei der initialen Immunantwort freigesetzt, was die Produktion von weiteren Zytokinen anregt. IL-1 $\beta$  wird vor allem von Monozyten produziert und kann schon in geringen Mengen Fieber, Kopfschmerzen und weitere Entzündungssymptome auslösen.[95] Ebenso wurde eine Erhöhung des entzündungsfördernden IL-1 $\beta$  unter Einfluss von Endotoxin gemessen.[98] IL-6 wird eine wichtige Rolle beim Übergang von angeborener zu erworbener Immunität zugesprochen und ist zudem notwendig für die Reifung von T-Lymphozyten. Neben der Aktivierung des Immunsystems hält IL-6 eine Vielzahl zusätzlicher Aufgaben in regenerativen Prozessen, bis hin zum Schmerzempfinden inne.[99, 100]

**Tumornekrosefaktor TNF- $\alpha$**  TNF- $\alpha$  zählt ebenfalls zu den wichtigsten pro-inflammatorischen Zytokinen, ist eines der ersten, die bei einer Entzündungsreaktion ausgeschüttet werden und zudem mit IL-1 $\beta$  und IL-6 gekoppelt. In Zellkulturversuchen wurde gezeigt, dass alveolare Makrophagen unter Exposition von ultrafeinen Partikeln vermehrt TNF- $\alpha$  freisetzen.[101, 88]

**IFN- $\gamma$**  Das einzige Interferon des Typs II regt, zusätzlich zu seiner antiviralen Wirkung, antigenpräsentierende Zellen an und stimuliert deren Produktion weiterer Zytokine. Des Weiteren aktiviert IFN- $\gamma$  die Phagozytose von neutrophilen Granulozyten und Makrophagen und deren Freisetzung von ROS (*respiratory burst*) und Stickstoffmonoxid.[95]

### **Eosinophiles kationisches Protein (ECP) im Nasensekret**

Bei einer Immunantwort, z.B. einer allergischen Reaktion, werden Leukozyten (weiße Blutkörperchen) aktiviert. Darunter fallen auch die sogenannten eosinophilen Granulozyten, die ihren Namen zum einen ihrer Anfärbbarkeit verdanken (eosinophil), zum anderen ihrer Fähigkeit, Vesikel (Granula) abzugeben und somit bestimmte Substanzen ins umliegende Gewebe abzusondern. Das *eosinophile kationische Protein* (ECP) wird nur von aktivierten eosinophilen Granulozyten freigesetzt und kann somit als Marker für die Anzahl und den Aktivierungsgrad der Eosinophilen dienen. Da ECP zyto- und neurotoxisch wirkt, um z.B. Oberflächen von Parasiten zu zerstören, kann es jedoch auch zur Epithelschädigung von körpereigenem Gewebe führen. Bei verschiedenen entzündlichen Erkrankungen im Körper, wie der atopischen Dermatitis, entzündlichen Darmerkrankungen und parasitären Infektionen, ebenso bei atemwegsspezifischen Entzündungen

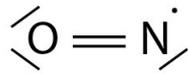


Abbildung 1.8.: Strukturformel von Stickstoffmonoxid (NO). Das freie Elektron macht das Molekül zu einem freien Radikal mit kurzer Halbwertszeit (1-5 s) und hoher Reaktivität.[105]

wie Asthma Bronchiale und Rhinitis, ist die Konzentration des ECP im Serum und in anderen Körperflüssigkeiten erhöht.[102, 36, 103] Die Nasensekretgewinnung durch Absorption mit Baumwollwatte stellt eine geeignete Methode dar, um die Proben auf ihren ECP-Gehalt zu bestimmen.[104]

### 1.5.3. Fraktioniertes exhalierendes Stickstoffmonoxid (FeNO)

Stickstoffmonoxid (auch Stickoxid, NO) ist ein kleines Molekül mit einem freien Elektron, das die erhöhte Reaktivität verursacht (Strukturformel siehe Abbildung 1.8). NO kann im Körper auf zwei Weisen wirken: in niedriger Konzentration als Mediator und Signalmolekül, sowie in hoher Konzentration als zytostatische und zytotoxische Substanz, die von den Immunzellen gebildet und als Abwehrmechanismus gegen Krebszellen eingesetzt wird.[105]

In der Lunge wird NO u.a. von Endothelzellen freigesetzt und wirkt gefäßerweiternd (Vasodilatation).[34] Die Analyse des *fraktionierten expiratorischen Stickstoffmonoxidgehalts* (FeNO), das hauptsächlich von Epithelzellen produziert wird, dient zur Diagnose eosinophiler Entzündungsreaktionen. Erhöhte FeNO-Werte werden bei Asthma Bronchiale und Allergien (z.B. Hausstaubmilbenallergie) beobachtet.[106, 107, 108, 109] Im Gegensatz dazu werden erniedrigte FeNO-Werte bei Rauchern gemessen.[110, 111]

## 1.6. Hypothese & Ziel

Aufgrund der erheblichen UFP-Emission von 3D-Druckern scheinen gesundheitliche Effekte bei Exposition denkbar. Ziel dieser Arbeit war es, eine explorative Expositionsstudie an Gesunden aufzubauen und durchzuführen, bei der durch Messung verschiedener biochemischer Parameter untersucht werden sollte, ob mögliche gesundheitliche Auswirkungen der Exposition detektiert werden können. Dabei lag der Fokus auf der Vergleichbarkeit der gemessenen Werte zwischen den beiden Expositionen mit den zwei verschiedenen Materialien ABS und PLA. Insbesondere wurde ein Anstieg der Entzündungsmarker im Nasensekret sowie im Urin nach einer oder beiden Expositionen erwartet.

Die in dieser Arbeit durchgeführte Charakterisierung der Partikelemissionen, der Nachweis der Machbarkeit einer solchen Expositionsstudie, sowie die anschließende Analyse der Proben können für die Planung weiterer Studien hinsichtlich möglicher Gesundheitseffekte von 3D-Druckern Hilfestellung bieten.

## 2. Methoden

### 2.1. Probanden

Die 26 jungen, gesunden Freiwilligen (13 Frauen, 13 Männer) waren überwiegend Studenten und wurden über direkten Kontakt akquiriert. Alle Probanden waren Nichtraucher und anamnesisch gesund, insbesondere mit normaler Lungenfunktion. Der Anamnesefragebogen befindet sich in Anhang A.2. Die Charakteristika der Probandengruppe sind in Tabelle 2.1 dargestellt. Die Studie wurde durch die Ethikkommission der Universitätsklinik der Ludwig-Maximilians-Universität für unbedenklich erklärt. Alle Probanden gaben nach Aufklärung ihre schriftliche Einwilligung.

#### **Akquirierung und Ausschlusskriterien**

Eine Übersicht des Ablaufs der Probandenakquirierung ist in Abbildung 2.1 dargestellt. Den Interessenten der Studie ( $N = 49$ ) wurden per E-Mail eine ausführliche Patientenaufklärung mit den Ausschlusskriterien zugeschickt. Potentielle Probanden wurden zu einer Voruntersuchung eingeladen ( $N = 36$ ), bei der anhand strenger Kriterien der Ein- bzw. Ausschluss zur Studie entschieden wurde. Zusätzlich wurde ein Fragebogen zur chemischen Sensitivität (acht Fragen des Fragebogens CAUS von Bailer et al. 2004, des chemischen Teils[112]) erhoben. Aus folgenden Gründen wurden alle Messverfahren (bis auf den Symptomfragebogen) bei der Voruntersuchung einmal durchgeführt. Erstens konnten sich die Probanden mit der Methodik vertraut machen, was einen Lerneffekt vorwegnehmen sollte, wodurch sich die Vergleichbarkeit der Untersuchungen an den Expositionstagen erhöhte. Zweitens konnten diese Werte zur Bestätigung eines gleichbleibenden Zustandes der Probanden herangezogen werden, indem sie mit den Werten jeweils vor den Expositionen verglichen wurden.

#	Geschlecht w = weiblich m = männlich	Alter [Jahre]	Größe [cm]	Gewicht [kg]	BMI [kg m <sup>-2</sup> ]	Material bei 1. Expo 0 = PLA 1 = ABS
1	w	26,3	181	68,7	21	0
2	m	28,1	179	90,0	28	1
3	w	25,6	175	60,8	20	0
4	w	28,8	169	55,4	20	1
5	m	25,0	171	68,7	23	0
6	w	20,1	171	57,2	20	1
7	m	21,4	196	90,8	24	1
8	m	25,0	199	82,0	21	1
9	m	21,9	181	77,0	24	0
10	m	26,4	170	70,3	24	1
11	w	29,8	162	53,6	20	0
12	w	28,1	175	77,9	26	1
13	w	18,1	176	70,6	23	1
14	w	27,9	175	62,4	20	0
15	w	27,0	166	64,1	23	0
16	w	29,5	164	71,1	27	1
17	m	30,5	163	78,8	30	1
18	w	26,2	170	57,7	20	1
19	w	22,3	168	58,8	21	0
20	w	26,3	173	61,4	21	0
21	m	24,3	192	76,0	21	1
22	m	25,3	167	61,4	22	0
23	m	23,0	186	93,4	27	0
24	m	27,4	177	79,9	26	0
25	m	18,4	186	75,5	22	1
26	m	27,7	180	76,5	24	0
Mittelwerte ( $\pm$ SD)   25,4 ( $\pm$ 3,3)   176 ( $\pm$ 9,6)   70,8 ( $\pm$ 11,0)   23,0 ( $\pm$ 2,8)						

Tabelle 2.1.: Charakteristiken der 26 Studienteilnehmer, sowie randomisierte Reihenfolge der Expositionen. Mittelwerte ( $\pm$ Standardabweichung) sind angegeben.

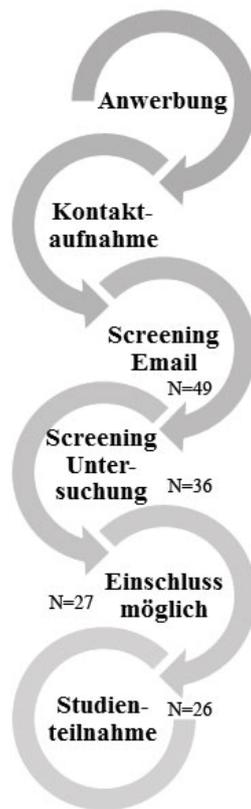


Abbildung 2.1.: Skizze des Ablaufs der Probandenakquirierung mit jeweiliger Anzahl verbleibender Probandenkandidaten (N).

Die durchgeführten Messungen beinhalteten eine Spirometrie, die Messung exhalierter Stickstoffmonoxids (FeNO für *fraktioniertes, exhalierendes Stickstoffmonoxid*) und exhalierter Kohlenstoffmonoxids (eCO), sowie die Probenahme von Nasensekret und Urin. Ausgeschlossen wurden Probanden deren Lungenfunktionswerten mehr als  $\pm 20\%$  von ihren Sollwerten abwichen, als auch solche, bei denen der Verzicht auf Nikotin durch die Messung von erhöhtem ( $\geq 5$  ppb [113]) eCO nicht bestätigt werden konnte. An den Expositionstagen dienten die eCO-Werte als Verifikation des Nichtraucherstatus der Probanden. Für FeNO wurde ein Wert über 50 ppb als Ausschlusskriterium gewertet, da dieser als Hinweis auf eine akute allergische Entzündung der Atemwege oder eine Allergie gewertet werden kann.[107, 109, 114] Kein Proband berichtete von einer ganzjährigen Allergie, und bei einer saisonalen Allergie wurde darauf geachtet, die Untersuchungen nicht in diesem Zeitraum durchzuführen. Es wurden 27 Probanden akquiriert, von denen 26 an der Studie teilnahmen.

Zeitpunkt	Messung
Vor Exposition	Urinprobe eCO FeNO Nasensekret Spirometrie
1 h Exposition	
Direkt nach Exposition	Symptomfragebogen FeNO Spirometrie Urinprobe
2-3 h nach Ende der Exposition	Nasensekret FeNO Urinprobe

Tabelle 2.2.: Ablauf eines Expositionstages. Die Zeitungenauigkeit beim letzten Probenahmezeitpunkt ergab sich aufgrund von probandenabhängigen Verzögerungen bei der Urinabgabe, den Spirometriemanövern oder der Nasensekretentnahme.

## 2.2. Studienprotokoll

Die Studie wurde einfach-blind, randomisiert und in einem „Cross-Over-Design“ (Vergleich zweier Behandlungs- bzw. Expositionsszenarien) durchgeführt. Die Messungen wurden jeweils *vor*, *direkt nach* und *2-3h nach* der Exposition durchgeführt. Die einfachverblindete Durchführung musste aufgrund technischer Anforderungen beim Bedienen der Instrumente gewählt werden. Es wurde jedoch streng darauf geachtet, dass die Probanden keine Unterschiede bei den Expositionstagen beobachten konnten und die Interaktion mit dem Betreuer minimal gehalten wurde.

Nach der Voruntersuchung wurden die Probanden für zwei Expositionstage eingeladen, die 5-7Tage auseinander lagen und für alle Probanden um 10:00 Uhr begannen, um mögliche circadiane Effekte zu berücksichtigen. Der Ablauf der Expositionstage mit den Zeitpunkten der Probenahmen sind in Tabelle 2.2 aufgeführt.

Die Nasensekretentnahme erfolgte nur *vor* und *2-3h nach* der Exposition, da zum einen eine wiederholte Probenahme innerhalb kurzer Zeit die Messungen beeinflussen kann, weil die Nasenschleimhaut gereizt wird, zum anderen die Freisetzung biochemischer Antworten der Zellen eine gewisse Zeit benötigt. Überdies wurde das exhalierete CO nur einmal zu Beginn jedes Expositionstages gemessen, da es hauptsächlich zum Ausschluss vorher-

gehender Expositionen, insbesondere durch Rauchen oder Passivrauchen, diente. FeNO wurden an allen Messzeitpunkten bestimmt, um unmittelbare und verzögerte Reaktionen zu erfassen, und eine Beeinflussung anderer Messungen sehr unwahrscheinlich ist. Die Lungenfunktionsmessung via Spirometrie wurde nur *vor* und *direkt nach* der Exposition durchgeführt, da akute Effekte denkbar erschienen und die Messung Störeffekte ausüben kann. Außerdem wurden diese jeweils nach der FeNO-Messung durchgeführt, um potentielle Effekte der forcierten Atemmanöver zu vermeiden. Der Symptomfragebogen wurde nur *direkt nach* der Exposition erhoben, weil sich viele Fragen auf die Erfahrungen mit der Drucksituation bezogen und die Probanden nicht vor der Exposition mit möglichen Symptomen konfrontiert werden sollten. Um einen möglichen Einfluss des Untersuchers durch den einfach-blinden Aufbau zu verhindern, wurde der Symptomfragebogen unmittelbar im Anschluss an die Exposition in der Messkammer ausgefüllt.

### 2.3. 3D-Druck

Für alle Drucke wurde der kommerziell erhältliche Desktop-3D-Drucker ULTIMAKER 2 (Ultimaker B.V., Niederlande) verwendet (erworben über <https://www.3dimensionals.de>). Der ULTIMAKER 2 ist mit einer beheizbaren Druckplatte ausgestattet, was ein temperaturbedingtes Verziehen der Druckobjekte verhindern soll.

Es wurden die Expositionen gegenüber den Materialien ABS und PLA verglichen. Diese beiden Filamente stellen eine realitätsnahe Exposition dar, da sie derzeit die am häufigsten verwendeten Filamente für FDM-Geräte sind. Es wurde schwarzes ABS (EASYFIL, 2,85 mm Durchmesser, 750 g Premium Filament) mit schwarzem PLA (EASYFIL, 2,85 mm Durchmesser, 750 g Premium Filament) verglichen. Alle Filamente wurden über die Webseite [www.3dimensionals.de](http://www.3dimensionals.de) vom gleichen Hersteller bezogen (Formfutura BV, Niederlande). Als Druckeinstellungen (u.a. Druckkopf- und Heizbetttemperatur) wurden die empfohlenen Werte der Hersteller von Drucker und Filamenten übernommen.

Um eine einheitliche und realistische Exposition zu gewährleisten, wurde ein Druckobjekt gewählt, dessen Komplexität und Größe innerhalb einer Stunde realisiert werden konnte. Das gewählte Objekt (FISH FOSSILZ, veröffentlicht am 18. Januar 2016 unter [www.thingiverse.com/thing:1276095](http://www.thingiverse.com/thing:1276095)) ist in Abbildung 2.2 zu sehen. Um einen eventuellen Rest eines Materials im Druckkopf zu vermeiden, wurde für jedes Material eine eigene Druckdüse verwendet und diese entsprechend ausgetauscht.



Abbildung 2.2.: Während der einstündigen Exposition gedrucktes Objekt. Oben: Objekt direkt nach dem Drucken mit sogenannter „Brim“, einer dünnen Randschicht für einen besseren Halt auf der Druckoberfläche, welche sich nach Fertigstellung leicht entfernen lässt. Unten: das fertige Objekt ohne Brim ist nun dank der ineinander gedruckten Gelenke beweglich. Vorlage von [www.thingiverse.com/thing:1276095](http://www.thingiverse.com/thing:1276095). [115] Das untere Bild ist Teil der „Supporting Information“ von Gümperlein et al. 2018. [86]

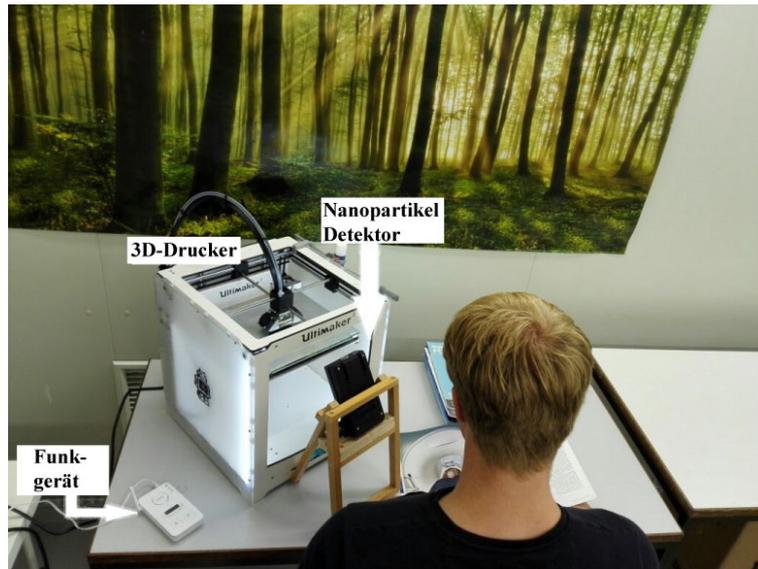


Abbildung 2.3.: Position des Probanden während der Exposition. Die Probanden hatten die Möglichkeit zu lesen. Eine Funksprechanlage ermöglichte einen Kontakt für Notfälle. Der Nanopartikel-detektor PARTECTOR lief während der gesamten Exposition. Der Wert auf dem Display war für die Probanden nicht einsehbar. Übernommen aus Gümperlein et al. 2018.[86]

Die Studie wurde in einer Messkammer ( $32\text{ m}^3$  Volumen) für arbeits- und umweltbezogene Expositionsmessungen durchgeführt.[5, 6] Die Probanden saßen direkt vor dem auf einem Tisch stehenden 3D-Drucker mit einem Abstand von etwa 40 cm zwischen Gesicht und Druckkopf (vergleiche Abbildung 2.3). Während den Expositionen war die Klimaanlage ausgeschaltet, um einerseits eine Absaugung der emittierten Partikel zu verhindern und andererseits eine realistische Expositionssituation zu gewährleisten. Viele Anwender verzichten in ihren Räumen auf eine Belüftung, da 3D-Drucke anfällig für Temperaturgradienten sind.

### 2.3.1. Überwachung der Partikelemissionen

#### Messgeräte

Vor dem Start der Studie wurden die UFP-Emissionen des 3D-Druckers detailliert charakterisiert. Diese Untersuchungen bestätigten, dass die Wahl des Filaments der entscheidende Faktor für die Höhe der UFP-Emissionen ist.[10, 19] Drei verschiedene Messgeräte wurden hierfür verwendet: ein Kondensationspartikelzähler Model CPC 3007 der Firma TSI (TSI Inc, USA), ein Partikelgrößenpektrometer Model EEPS 3090 von TSI, sowie

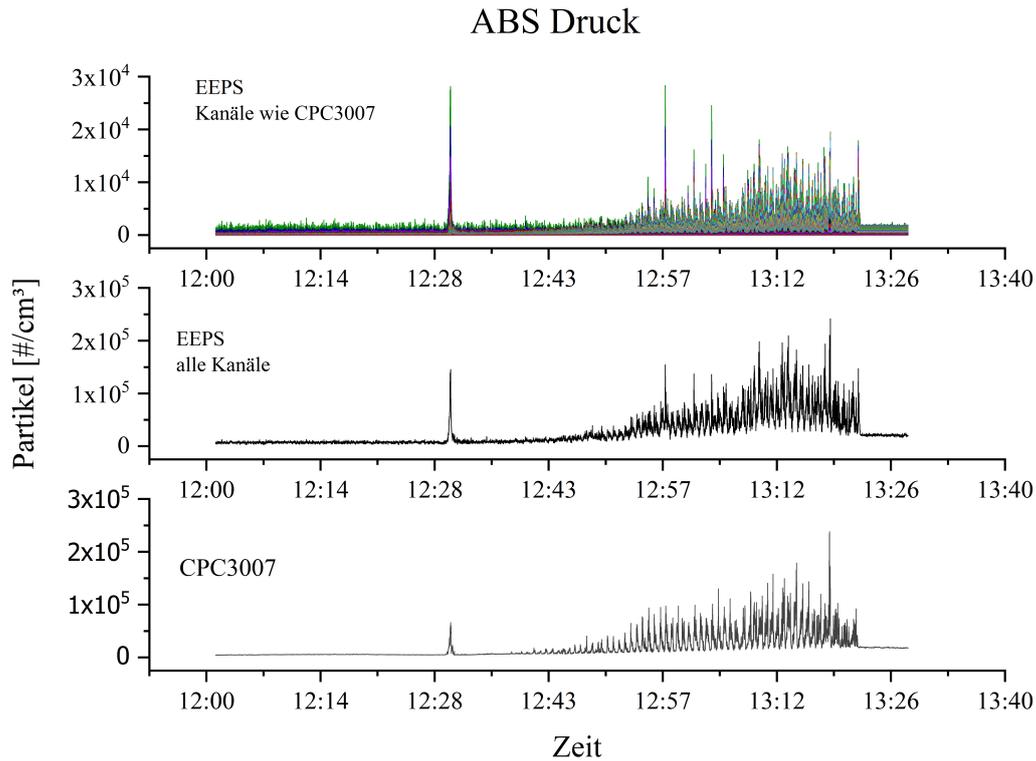


Abbildung 2.4.: Einstündiger Druck mit ABS. Oben: EEPS mit Größenkanälen von 10 nm – 0,56  $\mu\text{m}$ . Mitte: EEPS mit allen Größenkanälen (5,6 nm – 0,56  $\mu\text{m}$ ). Unten: CPC3007 (Bereich von 10 nm – 1  $\mu\text{m}$ ).

der Nanopartikeldetektor PARTECTOR der Firma Naneos (naneos particle solution GmbH, Schweiz). Mit Hilfe dieser drei Geräte lassen sich folgende Metriken messen: die Partikelkonzentration [ $\text{cm}^{-3}$ ], die Partikelgrößenverteilung [ $\mu\text{g m}^{-3}$  für alle Größenkanäle], sowie die lungengängige Partikeloberfläche LDSA [ $\mu\text{m}^2 \text{cm}^{-3}$ ].

Die Messung des einstündigen Druckes mit ABS mit den Messgeräten EEPS und CPC3007 ist in Abbildung 2.4 dargestellt und zeigt eine sehr gute Übereinstimmung. Um den unterschiedlichen Partikelgrößenbereich der Geräte auszugleichen, wurden im oberen Teil der Grafik nur die Größenkanäle des EEPS aufgetragen, die das CPC3007 auch anzeigen kann.

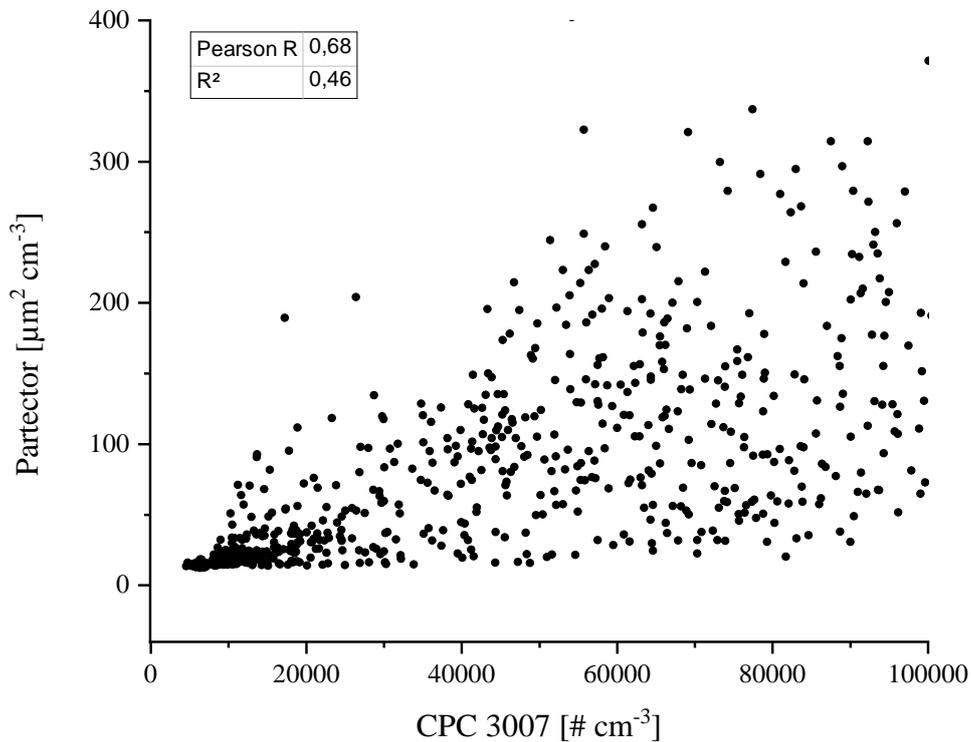


Abbildung 2.5.: Korrelation zwischen Partikelzähler CPC3007 (Partikelanzahl in  $\# \text{ cm}^{-3}$ ) und Partector (LDSA in  $\mu\text{m}^2 \text{ cm}^{-3}$ ). Der Korrelationskoeffizient R (nach Pearson) sowie das Bestimmtheitsmaß  $R^2$  sind angegeben.

### Korrelation Partikelanzahl und LDSA

Um die Korrelation zwischen den Metriken *Partikelanzahl* und *lungengängiger Partikeloberfläche* zu überprüfen, wurden die Messdaten des Partikelzählers CPC3007 und des Nanopartikeldetektors PARTECTOR vor Beginn der Studie miteinander verglichen, siehe Abbildung 2.5.

### Messaufbau

Die Partikelmessungen fanden in der gleichen Messkammer wie die Expositionen statt. Abbildung 2.6 zeigt den Aufbau der Messinstrumente. Zusätzlich zu den Ultrafeinparti-

	CPC3007	EEPS3090	PARTECTOR	Environ. Dust Monitor
Metrik	$\text{cm}^{-3}$	$\text{cm}^{-3}, \mu\text{g m}^{-3}$	LDSA [ $\mu\text{m}^2 \text{cm}^{-3}$ ]	$\text{cm}^{-3}, \mu\text{g m}^{-3}, \text{PM}_{10} / \text{PM}_{2,5} / \text{PM}_1$
Konzentrationsbereich	$0 - 100.000 \text{ cm}^{-3}$	$> 200 \text{ cm}^{-3}$	$1 - 20.000 \mu\text{m}^2 \text{ cm}^{-3}$	$0 - 2.000 \text{ cm}^{-3}$
Größenkanäle	-	32	-	31
zeitliche Auflösung	1 Hz	10 Hz	1 Hz	6 s - 1 h
min.	10 nm	5,6 nm	10 nm	250 nm
max.	$1 \mu\text{m}$	$0,56 \mu\text{m}$	$10 \mu\text{m}$	$32 \mu\text{m}$
Nachteil	Buthanolgeruch	groß, schwer	keine Partikelanzahl	keine UFP
Vorteil	tragbar	Größenbereich	handlich, LDSA	PM
Hersteller	TSI	TSI	Naneos	GRIMM

Tabelle 2.3.: Messeigenschaften der Partikeldetektoren CPC 3007, EEP 3090, PARTECTOR und des Environmental Dust Monitors.

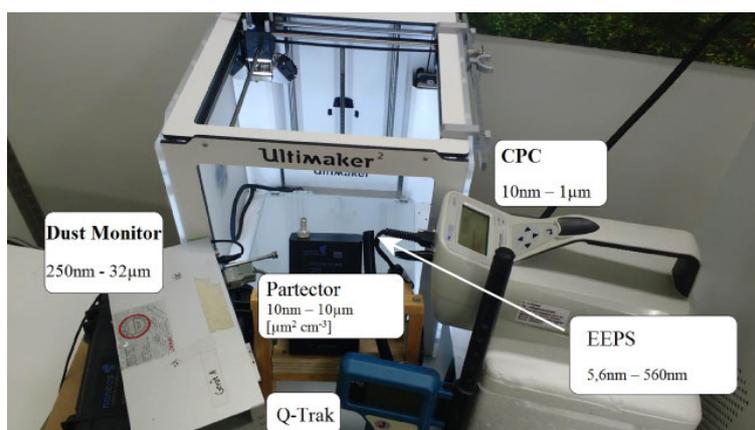


Abbildung 2.6.: Aufbau der Geräte bei den Partikelmessungen. Für das größere EEPS-Gerät wurde ein spezieller, antistatischer Probennahmeschlauch verwendet, dessen Öffnung neben den Einlässen des Partectors und des CPCs angebracht wurde (Pfeil).

kelzählern wurde der Environmental Dust Monitor (Model 1.109, GRIMM Aerosol Technik Ainring GmbH & Co. KG, Deutschland) zur Messung größerer Feinstaubpartikel, sowie ein Q-Trak (TSI GmbH) zur Überwachung von Temperatur, Luftfeuchte und  $\text{CO}_2$ -Konzentration eingesetzt. Die Eigenschaften der Partikelmessgeräte sind in Tabelle 2.3 zusammengefasst.

Die Charakterisierung der Emissionen bei Druck mit ABS bzw. PLA zeigte eine ausreichende Korrelation der Partikelmessgeräte (siehe Abbildungen 2.4 und 2.5). Deshalb wurde nur ein Gerät, der Partikeldetektor PARTECTOR, während den Expositionen der Probanden eingesetzt, da dieser zum einen sehr handlich und leise ist, zum anderen für den Betrieb keine Lösemittel (wie z.B. Butanol) benötigt, und somit eine mögliche Störung der Probanden durch einen Lösemittelgeruch vermieden wurde. Zur zusätzlichen Cha-

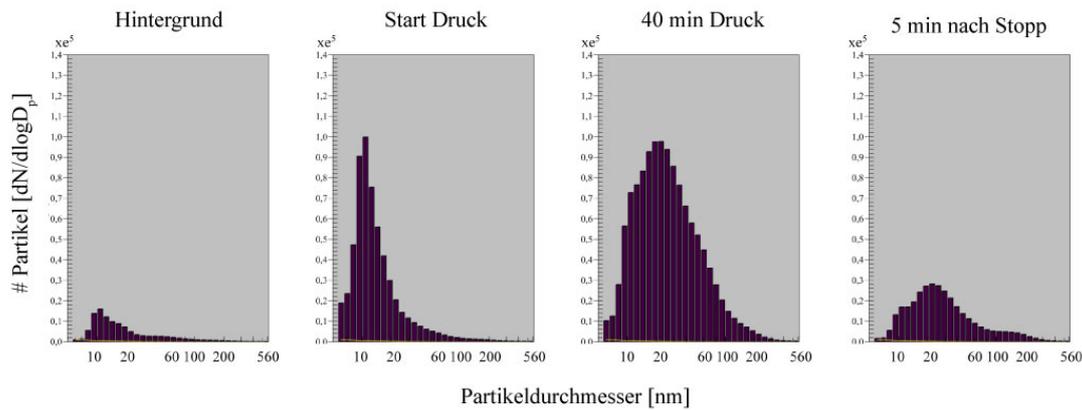


Abbildung 2.7.: Partikelgrößenverteilung zu verschiedenen Zeitpunkten während eines einstündigen ABS-Druckes. Der Anstieg der Partikelanzahl während des Druckes bestätigt die Messungen der anderen Partikelanzahlmessgeräte. Die Verschiebung des mittleren Partikeldurchmessers hin zu größeren Partikeln im Laufe des Druckes lässt sich auf Aggregation der Partikel zurückführen. Übernommen aus Gümperlein et al. 2018 und ins Deutsche übersetzt.[86]

Charakterisierung der Partikelgrößenverteilung wurde ein Partikelgrößenspektrometer EEPS der Firma TSI GmbH zur Verfügung gestellt. Die Änderung der Partikelgrößenverteilung während eines Druckes mit ABS ist in Abbildung 2.7 dargestellt. Es wurde das gleiche Objekt wie bei den Probandenexpositionen gedruckt. Mit dem EEPS wurde für den ABS-Druck eine mittlere Partikelanzahl von  $160.000 \text{ cm}^{-3}$  gemessen.

## 2.4. VOC-Emissionen in separatem Messaufbau

Während eines Druckes in der Messkammer konnten mit TENAX-Kartuschen aufgrund der geringen Emissionen und der hohen Verdünnung keine VOCs detektiert werden. Aus diesem Grund erfolgte die Analyse der VOC-Emissionen der erhitzten Kunststoffe in einem separaten Versuchsaufbau. Mögliche Aldehyde und Ketone in den Abgasen der erhitzten ABS- und PLA-Druckteile wurden dabei als DNPH-Derivat per Hochleistungsflüssigkeitsschromatographie (HPLC für *high performance liquid chromatography*) analysiert, weitere Substanzen per Festphasenmikroextraktion (SPME für *solid phase microextraction*) mit einem Gaschromatografen mit Massenspektrometrie-Kopplung (GC-MS/MS).

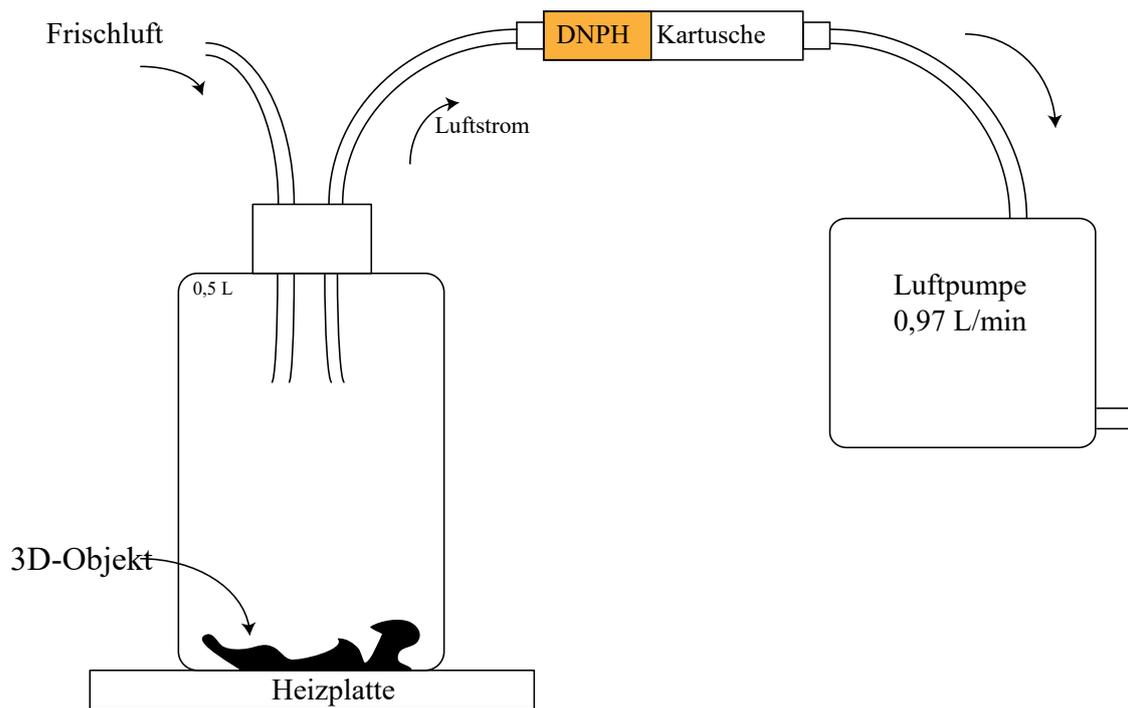


Abbildung 2.8.: Versuchsaufbau für die Probenahme per DNPH-Kartusche. Das Druckobjekt wurde in einer Flasche erhitzt, deren Luftinhalt eine Stunde lang permanent durch eine DNPH-Kartusche hindurch abgepumpt wurde. Teil der „Supporting Information“ von Gümperlein et al. 2018 und ins Deutsche übersetzt.[86]

### Aldehyde und Ketone via HPLC

Abbildung 2.8 zeigt den Aufbau der Probenahme für die HPLC Messungen. Das Druckobjekt, das auch während der Probandenexpositionen gedruckt wurde (Gewicht ca. 5 g) wurde in einer Glasflasche (0,5 L) auf 250 °C bei ABS und 210 °C bei PLA erhitzt. Die Gasphase wurde über eine DNPH-Silika-Kartusche (2,4-Dinitrophenylhydrazin, LPD-NPH H10 Cartridge, Supelco, USA) mittels Pumpe ( $0,97 \text{ L min}^{-1}$ ) 1 h lang angesaugt. In der Kartusche findet eine Derivatisierungsreaktion statt, die die vorkommenden Aldehyde/Ketone bindet.

Die anschließende Elution der Kartuschen erfolgte mit Acetonitril (Merck KGaA, Deutschland). Das Eluat wurde direkt in die HPLC (Shimadzu, Japan) eingespritzt. Um alle Substanzen im Carbonyl Standard Mix (Merck KGaA, Deutschland) auftrennen zu können, wurde ein Lösemittelgradient angelegt. Dabei wurden folgende HPLC-Einstellungen vor-

genommen: Säule NUCLEODUR C18ec 25 cm (Macherey-Nagel, Deutschland), Detektor UV-360 nm, Injektionsvolumen 20  $\mu\text{L}$ , Gradient Acetonitril/Wasser; 0 – 7 min 60/40 %; 20 min 100/0 %, Flußrate 1,5  $\text{mL min}^{-1}$ . Die Quantifikation erfolgte wie üblich durch Vergleich der Peakflächen von Probe und Standard. Die Luftproben wurden auf folgende Substanzen hin untersucht, die im Carbonyl Mix enthalten sind: Acetaldehyd, Aceton, Acrolein, Benzaldehyd, 2-Butanon, Butyraldehyd, Crotonaldehyd, Formaldehyd, Hexaldehyd, Methacrolein, Propionaldehyd, p-Tolualdehyd und Valeraldehyd.

## Gaschromatografie

Zusätzlich wurden folgende Substanzen per Gaschromatografie bestimmt: Aceton, Acetophenon, Cyclohexanon, Ethylbenzol, Pentan, Styrol und Toluol. Dabei wurde die Gasphase über erhitztem 3D-Druck-Filament mit einer SPME-Faser beprobt. Alle Standards für die Kalibration wurden von Sigma-Aldrich (Merck KGaA, Deutschland) bezogen.

Es wurden 0,1 g gedruckter Kunststoff (ABS oder PLA) bzw. die Kalibrationssubstanz in einem geschlossenen 20 mL-HEADSPACE-Glasfläschchen mit Gummideckel (Chromacol, England) für 10 min erhitzt. Anschließend wurde eine 65  $\mu\text{m}$  PDMS/DVB (polydimethylsiloxane/divinylbenzene) Faser (Supelco, Merck KGaA, Deutschland) durch das Septum eingeführt und für 1 min exponiert. Die Faser wurde unmittelbar anschließend in den GC-MS/MS injiziert, und die qualitative Analyse erfolgte via SIM (selected ion monitoring).

## 2.5. Biomarker im Nasensekret

### 2.5.1. Sekretgewinnung

Das Nasensekret wurde, neben der Voruntersuchung, an jedem Expositionstag *vor* und *2-3 h nach* der Exposition gewonnen. Die Nasensekretgewinnung wurde mit Baumwollstreifen durchgeführt, wie bereits in Klimek & Rasp 1999[104] und Kramer et al. 2004[116] beschrieben. Die Vorteile dieser Methode gegenüber der Nasenlavage sind ein geringeres Unwohlsein der Probanden sowie eine geringere Reizung der Nasenschleimhäute.

Die Probanden wurden aufgefordert, vor der Entnahme die Nase zu schnäuzen. Zur Aufnahme des Nasensekretes wurde ein ca. 2 – 3 cm langes Baumwollröllchen mit Hilfe eines

Spekulums und einer Bajonettpinzette in die mittlere Nasenmuschel des Nasenloches eingeführt. Diese Methode vermeidet die ungewollte Verdünnung mit Tränenflüssigkeit. Das Einführen war für den Probanden meist mit einem unangenehmen Gefühl verbunden, während der 15 minütigen Verweildauer war die Watte jedoch nicht zu spüren. Bei der Entnahme der Watte wurde darauf geachtet, die Nasenwand mit der Pinzette nicht zu berühren bzw. zu beschädigen. Das Watteröllchen mit dem Nasensekret wurde direkt nach der Entnahme in den Zylinder einer 2 mL-Spritze gegeben, die in ein 15 mL-Reagenzröhrchen (Sarstedt) gestellt wurde. Bei der anschließenden Zentrifugation (Zentrifuge 5702 R, Eppendorfer AG, Deutschland) mit  $3000 \cdot g$  RZB (relative Zentrifugalbeschleunigung) bei  $4^\circ C$  für 10 min sammelte sich das Sekret am Boden des Röhrchens, wobei die Watte vom Zylinder der Spritze zurückgehalten wurde. Bei einer Sekretgewinnung von deutlich unter  $100 \mu L$  wurde erneut ein Watteröllchen in ein Nasenloch des Probanden eingelegt. Watte, die sichtbar blutig tingiert war, wurde verworfen. Das erhaltene Sekret wurde aliquotiert und bis zur Analyse bei  $-20^\circ C$  gelagert.

### 2.5.2. Zytokine

Die Analyse der vier Zytokine erfolgte per Immunoassay (ELLA, ProteinSimple, USA). Das System nutzt Mikrofluid-Kanäle und kann, bei gleichzeitiger Minimierung der Kreuzreaktivität, mehrere Analyten auf einmal bestimmen.

Die Nasensekrete wurden mit einer Verdünnung von 1:2 zur Analyse eingesetzt. Dabei wurde nach dem Protokoll des Herstellers vorgegangen. Pro Durchgang (Platte) konnten bei 16 Proben gleichzeitig alle vier Analyten gemessen werden. Die Detektionsgrenzen für die Analyten IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  und IFN- $\gamma$  lagen bei 0,06, 0,26, 0,28 bzw.  $0,49 \text{ pg mL}^{-1}$ .

### 2.5.3. ECP

Das eosinophile kationische Protein (ECP) wurde in denjenigen Nasensekretproben bestimmt, die nach der Zytokinanalyse noch genug Material ( $50 \mu L$ ) aufwiesen. Die Analyse erfolgte via Fluoreszenz-Enzym-Immunoassay (ELISA für *enzyme-linked immunosorbent assay*) mit Kit (ImmunoCAP<sup>®</sup> ECP) und Analysegerät (UNICAP<sup>®</sup>100) von Phadia AB, Schweden (Thermo Fisher Scientific, USA). Es wurden  $40 \mu L$  Nasensekret mit einer Verdünnung von 1:5 (Verdünnungsmittel im Kit enthalten) eingesetzt.

## 2.6. Bestimmung von 8-iso-Prostaglandin $F_{2\alpha}$ im Urin

Jeder Proband gab im Laufe der Untersuchungen sieben mal Urin ab: bei der Voruntersuchung, sowie jeweils am Expositionstag den Morgenurin, *direkt nach* der Exposition und *2-3 h nach* der Exposition. Die Urine wurden aliquotiert und bei  $-20^{\circ}\text{C}$  bis zur Analyse eingefroren.

Zur chromatografischen Bestimmung des 8-*iso*- $PGF_{2\alpha}$  Levels (CAS No.: 27415-26-5, Cayman, USA) im Urin wurden die Methoden von Milne et al. 2007[117], Tsikas & Suchy 2016[118], Bessard et al. 2001[119] und Xiao et al. 2016[120] modifiziert. Um mögliche Schwankungen in der Probearbeitung zu erfassen wurde das deuterierte  $PGF_{2\alpha} - d4$  (CAS No.: 3410-11-2, Cayman, USA) als interner Standard (IS) verwendet.

### 2.6.1. Probenaufbereitung

2 mL Urin wurden mit 2 mL phosphatgepufferter Salzlösung (PBS für *phosphate buffered saline*), 50  $\mu\text{L}$  IS ( $1\text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$ ) sowie 100  $\mu\text{L}$  Ethanol vermischt, mit 150  $\mu\text{L}$  5 molarer Ameisensäure angesäuert und bei Raumtemperatur 30 min inkubiert. In der Zwischenzeit wurden C8-Säulen zur Festphasenextraktion (SPE für *solid phase extraction*) (Chromafix, Macherey-Nagel, Germany) mit jeweils zwei Säulenfüllungen (5 mL) Methanol und 0,05 molarer Ameisensäure konditioniert, wobei darauf geachtet wurde, die Säulen zwischen den Schritten nicht trockenlaufen zu lassen. Nach der Inkubationszeit wurden die Proben auf die SPE-Säulen gegeben und anschließend mit 2,5 mL Ameisensäure/Acetonitril (im Verhältnis 6:1 V/V), sowie 2,5 mL  $\text{H}_2\text{O}$  (destilliert) und 1 mL n-Hexan gereinigt. Die Elution erfolgte mit 2 mL Ethylacetat. Das Eluat wurde bei  $50^{\circ}\text{C}$  unter Stickstoff eingedampft.

### 2.6.2. Derivatisierung mit BSTFA

Zur gaschromatografischen Analyse nicht flüchtiger Proben werden polare Gruppen wie  $-OH$  in leichter flüchtige, unpolare Derivate überführt. Dies geschieht beim 8-*iso*- $PGF_{2\alpha}$  durch Silylierung. Die Derivatisierung erfolgte mit 75  $\mu\text{L}$  N,O-Bis(trimethylsilyl)-trifluoroacetamid (BSTFA) mit 1% Trimethylchlorosilan (TMCS) (99:1) (SILYL 991, Chromatographie Service GmbH, Deutschland) für 1 h bei  $60^{\circ}\text{C}$ . 1  $\mu\text{L}$  des gewonnenen

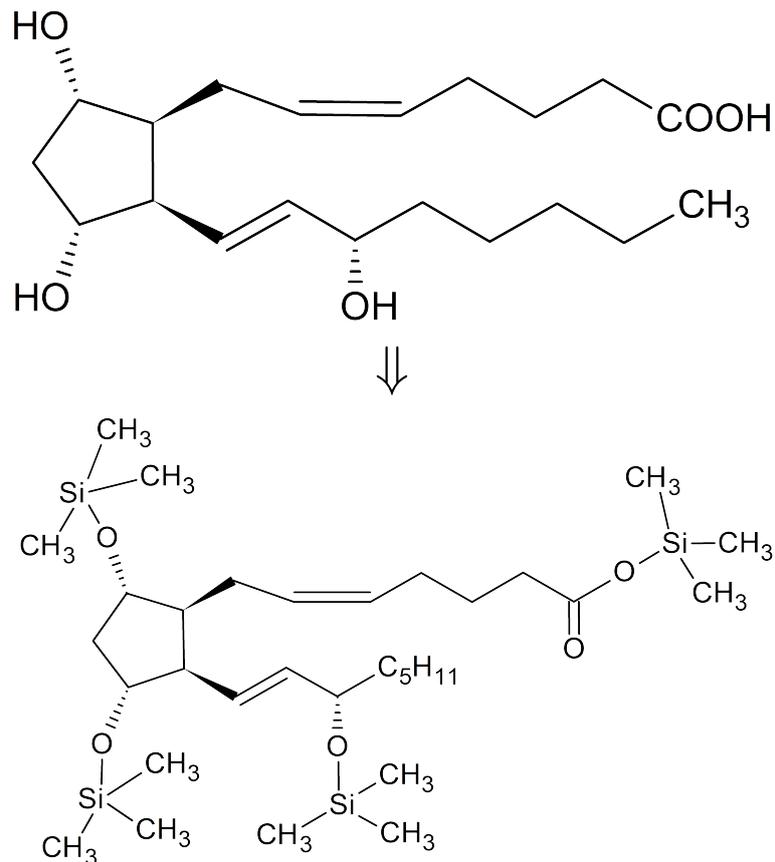


Abbildung 2.9.: Silylierung von 8-*iso*- $PGF_{2\alpha}$  zum TMS-Derivat. Vier Wasserstoffatome wurden durch  $Si(CH_3)_3$  ersetzt. Wird dieses Bruchstück (mit dem anhängenden  $O$ ) abgespalten, muss für die Masse folglich  $TMSOH$  (=  $90 m/z$ ) abgezogen werden.

Trimethylsilyl (TMS)-Esters wurde in einen Gaschromatografen mit Tandemmassenspektrometrie (GC/MS-MS) mit Elektronenionisation (EI) (GC/MS TRIPLEQUAT 7000, Agilent Technologies, USA) injiziert. Abbildung 2.9 zeigt das 8-*iso*- $PGF_{2\alpha}$  Molekül an dem vier Wasserstoffatome durch das TMS ersetzt wurden.

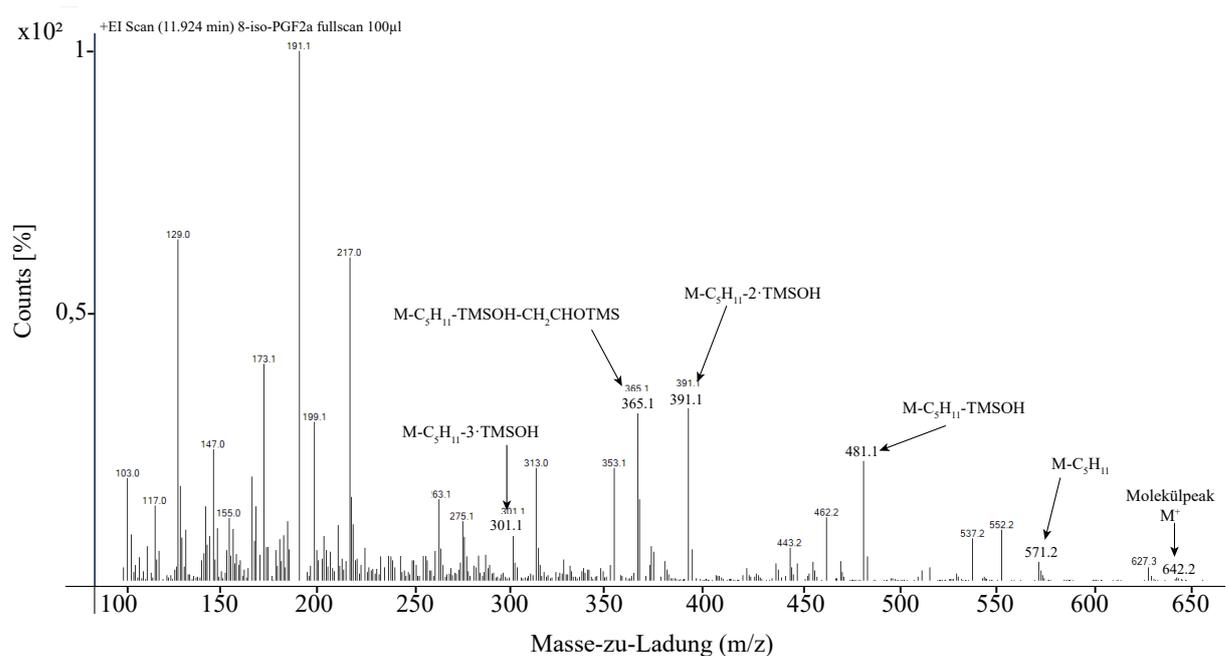


Abbildung 2.10.: Massenspektrum eines derivatisierten 8 – *iso* –  $PGF_{2\alpha}$ . Das gesamte Molekül (Molekülionpeak) mit Gesamtmasse  $M^+$  entspricht 642  $m/z$  (Masse-zu-Ladung); die Peaks der weiteren Bruchstücke sind markiert. Zur Erklärung der Bruchstücke, siehe Abbildung 2.11.

### 2.6.3. Gaschromatographische Analyse

Das derivatisierte Molekül passierte die Trennsäule des Gaschromatografen, wurde in den Quadrupolen des Massenspektrometers zuerst ionisiert, danach selektiv fragmentiert, und anschließend erfolgte die Detektierung dieser Bruchstücke. Grafik 2.10 zeigt das Massenspektrum des derivatisierten 8 – *iso* –  $PGF_{2\alpha}$ . Die Entstehung der verschiedenen Masse-zu-Ladung-Peaks ( $m/z$ ) der Bruchstücke wird in Abbildung 2.11 erklärt.

Die chromatografische Auftrennung wurde mit einer 2x15 m VF-5ms-Trennsäule (Agilent Technologies, USA) erreicht. Das Temperaturprogramm für den Ofen war wie folgt: 70 °C für 2 min, Aufheizen in 25 °C min<sup>-1</sup> Schritten bis 280 °C, dann mit 5 °C min<sup>-1</sup> aufheizen bis zur Endtemperatur von 290 °C. Um das System vor Verunreinigungen zu schützen, wurde ein sogenannter „back flush“ für 2,5 min angelegt. Dabei wird der Trägergasfluss nach einiger Zeit umgekehrt und Moleküle, die länger in der Säule verbleiben, zurückgespült.

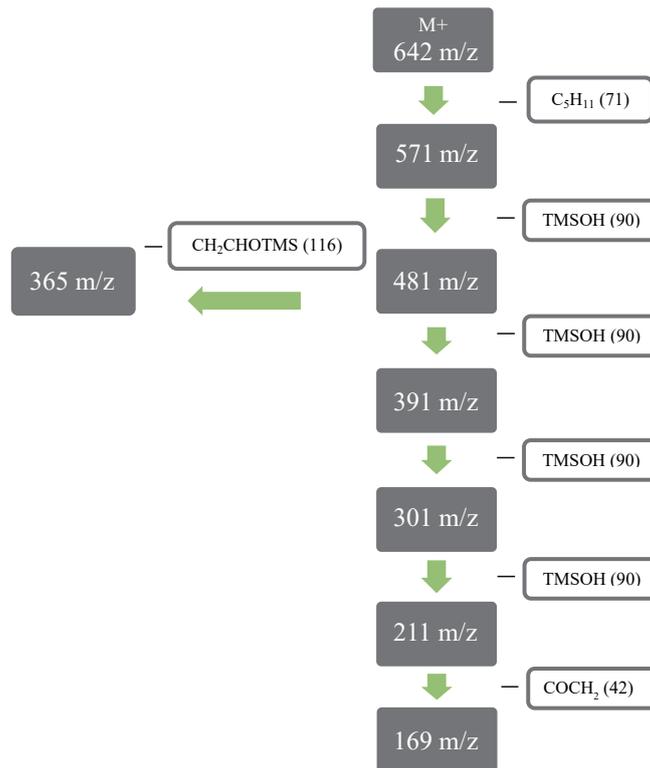


Abbildung 2.11.: Fragmentierung des TMS-Derivats von 8 – iso – PGF<sub>2α</sub>. Im Schema ist dargestellt, wie das Massenspektrum von Abbildung 2.10 zustande kommt, d.h. die systematische Entstehung der Bruchstücke und die zugehörigen Massenpeaks.

Die Quantifizierung von 8 – iso – PGF<sub>2α</sub> über den internen Standard (IS) PGF<sub>2α</sub>-d4 erfolgte im MRM-Modus (multi reaction monitoring) mit den Übergängen  $m/z$  481 →  $m/z$  391 für den Analyten 8 – iso – PGF<sub>2α</sub> und  $m/z$  485 →  $m/z$  395 für den IS. Alle Werte wurden an einer externen Kalibrationskurve abgelesen. Als Qualifier dienen die Übergänge  $m/z$  481 →  $m/z$  169 für 8 – iso – PGF<sub>2α</sub> und  $m/z$  395 →  $m/z$  173 für PGF<sub>2α</sub> – d4.

#### 2.6.4. Methodenentwicklung und Validierung

Um die Methode zu optimieren, wurden verschiedene Komponenten getestet, unter anderem der Vergleich von C18- und SAX/HLB-Festphasensäulen und Ausschütteln mit Dichlor anstatt SPE-Säulen, welche jedoch keine Verbesserung darstellten. Eine Matrixkalibrierung mit Poolurin war nicht möglich, da  $8\text{-iso-PGF}_{2\alpha}$  (und  $PGF_{2\alpha}$ ) in geringen Mengen in jedem Urin vorhanden sind und sich somit kein absoluter Nullpunkt der Kalibrationsgeraden berechnen lässt.

Aus diesem Grund wurde eine externe Kalibrationsgerade mit zudotierten PBS-Proben erstellt, die die gleiche Probenvorbereitung durchliefen wie die Urinproben. Um die Sensitivität zu erhöhen, erfolgte für jede Probe eine Zweifachbestimmung mit dem reinen Urin und zusätzlich einer Zudotierung von  $500\text{ ng L}^{-1}$   $8\text{-iso-PGF}_{2\alpha}$  Standard. Die untere Nachweisgrenze LLOD (lower limit of detection) betrug  $100\text{ ng L}^{-1}$  bei einer Unsicherheit von 10%. Zudem wurde eine ausreichende Auftrennung von  $8\text{-iso-PGF}_{2\alpha}$  und  $PGF_{2\alpha}$  (CAS No.: 551-11-1, Merck KGaA, Deutschland) geprüft.

## 2.7. Lungenfunktion und Biomarker in der Ausatemluft

### 2.7.1. Spirometrie

Die Durchführung der Lungenfunktionsmessung mittels Spirometrie erfolgte gemäß etablierten Leitlinien [121] mit einem System zur pulmonalen Funktionsdiagnostik (MASTER-SCREEN-PFT, Viasys Healthcare GmbH, Deutschland). Die erhaltenen Werte wurden mit einer Software der EUROPEAN RESPIRATORY SOCIETY (ERS)[122] mit den Normal- bzw. Sollwerten jedes Probanden verglichen. Die während des forcierten Atemmanövers gemessenen Parameter waren die Einsekundenkapazität ( $FEV_1$  für *forced expiratory volume in 1 second*), die das ausgeatmete Volumen in der ersten Sekunde eines forcierten Ausatmens erfasst, sowie die forcierte Vitalkapazität (FVC für *forced vital capacity*), d.h. das Atemvolumen, das nach maximaler Inhalation vollständig ausgeatmet werden kann. Verminderte  $FEV_1$ - und FVC-Werte können ein Hinweis auf eine Atemwegserkrankung darstellen.

Der sogenannte *Tiffeneau-Index* wird aus dem Quotienten von  $FEV_1$  zu FVC berechnet und dient als Unterscheidungsmerkmal obstruktiver (z.B. Asthma) und restriktiver (z.B. Fibrose) Lungenerkrankungen, siehe Abbildung 2.12. Obstruktive Atemstörungen (eingengegte Atemwege) kennzeichnen sich durch einen erniedrigten  $FEV_1$ -Wert, wobei der FVC-Wert im normalen Bereich liegen kann.[29] Beispiele einer obstruktiven Erkrankung sind COPD (*chronic obstructive pulmonary disease*) und Asthma bronchiale. Ein normaler  $FEV_1$ -Wert und ein erniedrigtes FVC-Volumen wiederum sind Zeichen einer restriktiven Atemstörung, bei der die Lungendehnbarkeit vermindert oder Teile der Lunge funktionsuntüchtig sind, wie z.B. bei einer Wirbelsäulenkrümmung oder einer Lungenfibrose.[123]

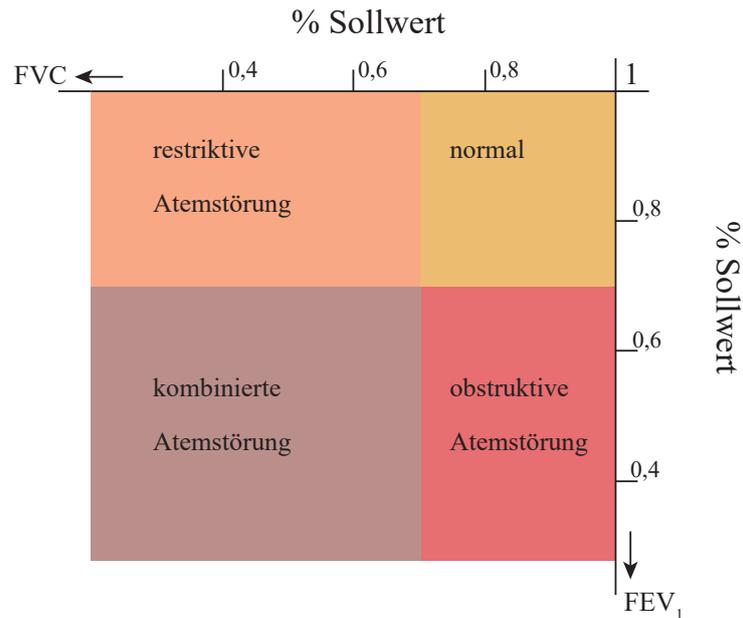


Abbildung 2.12.: Prinzipschema der klinischen Bedeutung von FEV<sub>1</sub> und FVC. Nach Silbernagl & Despopoulos 1983.[29]

### 2.7.2. Exhalierendes Kohlenstoffmonoxid (CO)

Die Messung von Kohlenstoffmonoxid in der Ausatemluft (eCO) erfolgte mit einem CO-Messgerät (BreathCO, Vitalograph Ltd, England) nach der Anleitung des Herstellers. Ohne Nasenklammer atmeten die Probanden rasch durch den Mund ein und hielten für 10 Sekunden die Luft an. Danach folgte die vollständige Expiration in das Mundstück des Messgerätes.

### 2.7.3. Fraktioniertes exhalierendes Stickstoffmonoxid (FeNO)

Die Stickstoffkonzentration in der Ausatemluft wurde bei einer Ausatemrate von 50 mL s<sup>-1</sup> gemäß den Leitlinien der AMERICAN THORACIC SOCIETY und der EUROPEAN RESPIRATORY SOCIETY [124] gemessen. Eine eigens programmierte Auslesesoftware für das Stickstoffmonoxidmessgerät (NOA 280, Sievers Instruments Inc., USA) ermöglichte eine sofortige grafische Darstellung der NO- und der Druckwerte der Ausatemluft. Die FeNO-Messungen erfolgten immer vor der Spirometrie, um mögliche Effekte eines forcierten Atemmanövers auf die NO-Werte zu vermeiden.

## 2.8. Fragebögen

### 2.8.1. Fragebogen zur chemischen und allgemeinen Umweltsensitivität (CAUS)

Zur Einschätzung der Sensitivität der Probandengruppe wurde bei der Voruntersuchung einmalig ein Teil des CAUS-Fragebogens [112, 125] erhoben. Dafür wurden acht Fragen ausgewählt, die sich auf die individuelle chemische Geruchssensitivität beziehen. Alle Fragen waren mit einer Skala von 1 („gar nicht zutreffend“) bis 5 („sehr zutreffend“) versehen und können in Anhang A.2 nachgeschlagen werden.

### 2.8.2. Symptomfragebogen

Der Symptomfragebogen wurde den Probanden nach jeder Exposition vorgelegt, wobei sie sich noch im Expositionsraum befanden und keine Interaktion mit dem Studiendurchführenden bestand. Englischsprachigen Probanden wurde eine englische Version des Fragebogens vorgelegt. Als Antwortmöglichkeit aller Fragen diente eine 10 cm lange visuelle Analogskala (VAS), die von „überhaupt nicht“ bzw. „sehr schlecht“ nach „sehr stark“ bzw. „sehr gut“ reichte. Der detaillierte Fragebogen befindet sich im Anhang A.2. Neben Fragen zu möglichen Symptomen zu Nasen, Augen, Kreislauf usw. wurden vier Fragen zur allgemeinen Befindlichkeit während der Exposition gestellt:

- Wie war Ihr Wohlbefinden in der Kammer?
- Wie stark haben Sie den Geruch in der Kammer wahrgenommen?
- Wie sehr haben Sie sich durch den Geruch in der Kammer belästigt gefühlt?
- Wie sehr haben Sie sich durch die Druckaktivität in der Kammer insgesamt beeinträchtigt gefühlt?

## 2.9. Statistische Auswertung

Die Daten wurden entsprechend ihrer Verteilung als Mittelwerte mit zugehöriger Standardabweichung (SD für *standard deviation*), geometrische Mittelwerte mit zugehöriger geometrischer Standardabweichung, sowie Mediane mit zugehörigen Quartilen dargestellt. Als Maß für logarithmisch normalverteilte Daten wurde die geometrische Standardabweichung verwendet, beispielsweise für die *8-iso-PGF<sub>2α</sub>*-Konzentration im Urin. Sie entspricht der exponierten Standardabweichung der logarithmierten Ursprungswerte und ist somit der Faktor, um den der entsprechende geometrische Mittelwert variiert. Sie wird im Folgenden durch „÷“ symbolisiert.

Die Lungenfunktionswerte sowie die logarithmisch transformierten FeNO-Daten waren annähernd normalverteilt. Um potentielle Änderungen sowie Unterschiede im zeitlichen Verlauf nach der Exposition (Interaktionen) zu detektieren, wurden der t-Test für verbundene Stichproben und eine Varianzanalyse (ANOVA) für Messwiederholungen durchgeführt.

Als Korrelationsmaß für den linearen Zusammenhang zweier Variablen, wurde der Korrelationskoeffizient nach Pearson  $R$  sowie das entsprechende Bestimmtheitsmaß der Regression  $R^2$  angegeben.

Die Werte der Parameter im Nasensekret und im Urin für die Zeitpunkte *vor* und *nach* der Exposition wurden mit dem Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test für gepaarte Stichproben verglichen, da diese nicht normalverteilt vorlagen. Dieser Test wurde auch für die Daten des Symptomfragebogens verwendet. Um beide Expositionen miteinander und außerdem die Zytokinantworten untereinander zu vergleichen, wurde eine ANOVA für Messwiederholungen eingesetzt. Für diese Varianzanalyse wurden logarithmisch transformierte Zytokinwerte verwendet, die dadurch annähernd normalverteilt waren.

Um die Korrelation der Zytokinantworten genauer zu verstehen, wurde eine orientierende Faktorenanalyse (Hauptkomponentenanalyse) angewendet, obwohl nur Daten von 26 Probanden zur Verfügung standen.

Eine statistische Signifikanz wurde für p-Werte (Fehler erster Art,  $\alpha$ -Fehler) von  $<0,05$  angenommen. P-Werte wurden, soweit möglich, explizit angegeben, und es wurde keine Korrektur für wiederholte Tests angewendet. Alle Analysen erfolgten mit der Statistiksoftware SPSS STATISTICS (Version 24.0.0.1, IBM, USA).



## 3. Ergebnisse

### 3.1. Charakterisierung der Partikelexposition

Der zeitliche Verlauf der Emissionen aller einstündigen Expositionen ist in Abbildung 3.1 in  $\mu\text{m}^2\text{cm}^{-3}$  (LDSA) aufgetragen. Alle Expositionen hatten einen Partikelanstieg unmittelbar nach Start des Druckes gemeinsam, den sogenannten *initial peak*. Bei den zwei Expositionen, die in der Mitte des Druckvorganges eine besondere Konzentrationserhöhung aufzeigten, löste sich während des Vorganges das Objekt von der Druckplatte ab und der Drucker druckte „ins Leere“. Hierbei musste der Druck neu gestartet werden, wobei die Gesamtexpositionszeit der Probanden jedoch eingehalten wurde.

Die Mittelwerte der Partikelemissionen sind Grafik 3.2 zu entnehmen. Schließt man die beiden Expositionen mit den Druckfehlern (in der Grafik mit \* markiert) von der Auswertung aus, beträgt der Median ( $\{25.; 75. \text{ Perzentile}\}$ ; min; max) der LDSA [ $\mu\text{m}^2\text{cm}^{-3}$ ] Werte für die Drucke mit ABS 81,0 ( $\{47,1; 113\}$ ; 25,7; 358)  $\mu\text{m}^2\text{cm}^{-3}$  und für PLA-Drucke 7,2 ( $\{4,8; 10\}$ ; 2,9; 17)  $\mu\text{m}^2\text{cm}^{-3}$ .

Die zwei Probanden, während deren Exposition ein Druckfehler auftrat und die folglich einer erhöhten Partikelbelastung ausgesetzt waren, zeigten keine erhöhten Werte relativ zu den anderen Probanden, weder bei den Messparametern noch bei den Fragebögen.

Grafik 3.3 zeigt die Luftqualitätsparameter Temperatur, Kohlenstoffdioxid ( $\text{CO}_2$ ) und Luftfeuchte beispielhaft für eine Exposition mit ABS-Emissionen während einer Stunde. Da die Messkammer abgeschlossen war, stieg die Temperatur an, blieb aber immer unter  $28^\circ\text{C}$ . Allerdings wurden die Probanden darauf hingewiesen, auf mehrschichtige Kleidung zu achten, um etwaige Temperaturerhöhungen ausgleichen zu können. Kein Proband klagte über zu hohe Temperaturen. Ebenso stieg der  $\text{CO}_2$ -Wert während der Exposition in der geschlossenen Kammer an. Allerdings lag der Maximalwert mit ca. 1000 ppm (*parts per million* entspricht 0,1 Volumenprozent oder  $\text{mLm}^{-3}$ ) immer noch im akzeptablen Bereich von 1000 – 1400 ppm, was einer „moderaten Innenraumluftqualität“ laut der Norm DIN EN 13779 von 2007 entspricht.[126]

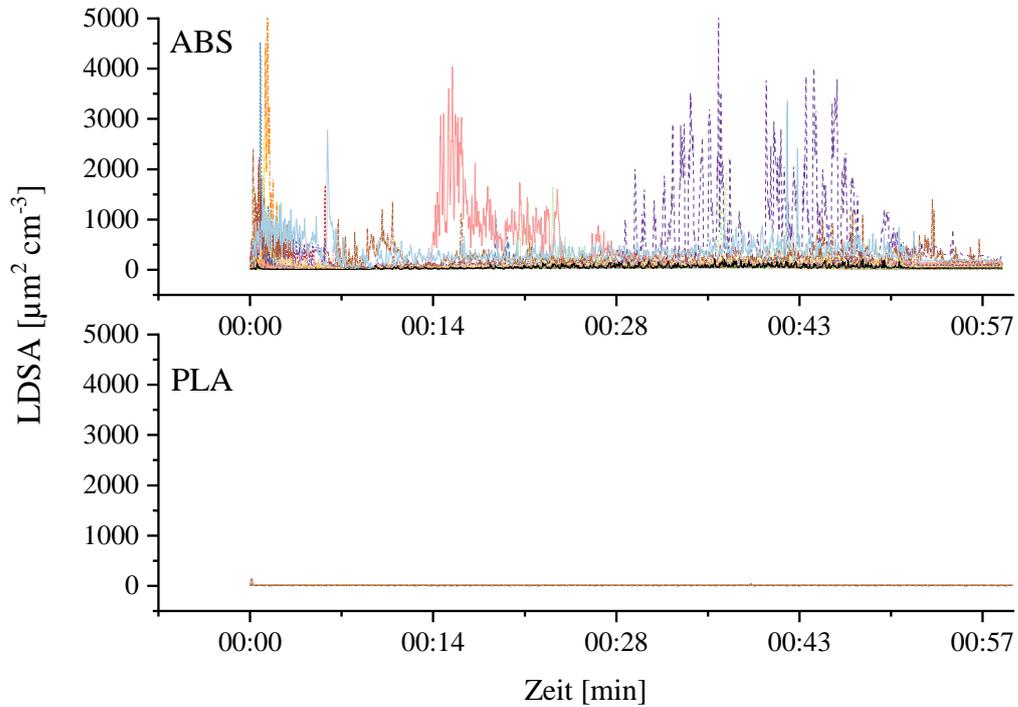


Abbildung 3.1.: Zeitlicher Verlauf der lungengängigen Partikeloberfläche (LDSA in  $\mu\text{m}^2 \text{cm}^{-3}$ ) während der einstündigen Expositionen. Jede Farbe stellt einen Probanden dar. Oben: Drucke mit ABS. Unten: Drucke mit PLA. Bei gleicher Auflösung der Skalen wird deutlich, wie sehr sich beide Materialien in ihrer UFP-Emission unterscheiden. Der Initial Peak (anfänglich erhöhte Konzentration) war bei jedem Druck zu beobachten. Die zwei sehr unterschiedlichen Emissionsmuster beim ABS-Druck waren auf die im Text beschriebenen Fehler beim Drucken zurückzuführen. Aus Gümperlein et al. 2018[86]; nachträglich koloriert.

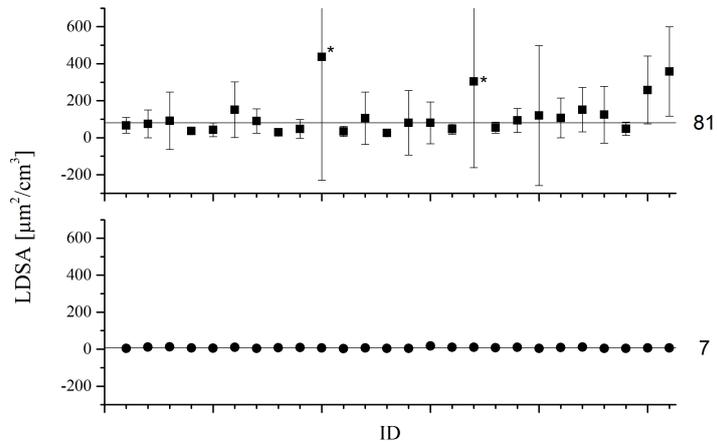


Abbildung 3.2.: Mittelwerte der LDSA für alle Expositionen. Oben: Druck mit ABS. Unten: Druck mit PLA. \* Exposition bei der ein Druckfehler auftrat. Diese wurden aus der Berechnung der Mittelwerte ausgeschlossen. Aus Gümperlein et al. 2018.[86]

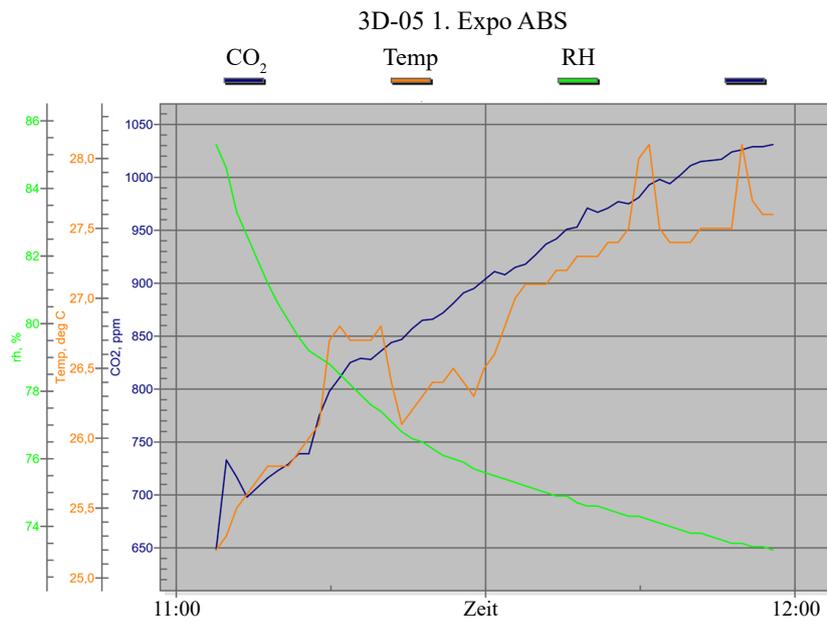


Figure 3.3.: Verlauf von Temperatur, CO<sub>2</sub> und relativer Feuchte (RH) während eines Druckes mit ABS mit Proband im Messraum.

## Berechnung der Oberflächendosis während eines einstündigen Druckes mit ABS

Schmid & Cassee 2017[127] merkten in ihrem Artikel an: „Exposure is a poor surrogate for delivered dose“, also Exposition sei ein schlechter Ersatz für die abgegebene Dosis, in diesem Fall *in der Lunge*. Hier zeigte sich der Vorteil, Partikelemissionen auch in der Metrik LDSA in  $\mu\text{m}^2 \text{cm}^{-3}$  zu messen, da hier bereits die *lungengängige* Partikeloberfläche angegeben ist. Die Autoren gehen in dem Artikel auf die Vergleichbarkeit von Zell- bzw. Tierstudien ein und definieren eine *normalized delivered dose*, bei der die Partikelmasse (oder Oberfläche) auf die Masse der Tierlunge bzw. die Oberfläche der Zellen (Lungenepithelzellen) bei Zellversuchen angerechnet wird.

Trotz der Tatsache, dass nach umgehender Literaturrecherche keine humanen Expositionsdaten in ähnlicher Metrik zum Vergleich vorlagen, folgt eine kurze Abschätzung einer *equal surface area dosage* während der Exposition beim Druck mit ABS, d.h. der Anteil der Partikeloberfläche pro Fläche des humanen alveolaren Epitheliums:

Wie bereits in Kapitel 1.1.2 beschrieben, atmet ein Mensch (25 Jahre alt) in der Stunde ca.  $420\,300 \text{ cm}^3$  Luft ein. Bei einer Partikelexposition wie beim 3D-Druck mit ABS wird er mit einer mittleren Partikeloberfläche von  $81 \mu\text{m}^2 \text{cm}^{-3}$  exponiert, atmet also ca.  $34\,044\,300 \mu\text{m}^2$  Partikeloberfläche pro Stunde ein. Die Oberfläche der Alveolen beträgt ca.  $100 \text{ m}^2$ [28], d.h. es treffen  $0,3 \text{ cm}^2$  Partikeloberfläche auf  $100 \cdot 10^4 \text{ cm}^2$  Alveolenoberfläche.

## 3.2. Biomarker im Nasensekret

### 3.2.1. Zytokine

Insgesamt standen sechs von 130 Nasensekretproben mangels ausreichendem Probenvolumen für die Analyse nicht zur Verfügung. Für die Analyten IL-1 $\beta$ , IL-6 und TNF- $\alpha$  lagen alle gemessenen Werte innerhalb der entsprechenden Kalibrationsbereiche, während für IFN- $\gamma$  die meisten Signale unterhalb des Kalibrationswertes mit der kleinsten Konzentration lagen. Trotzdem wurden für diese Proben die Konzentrationen berechnet und für die Analyse verwendet. Die Zytokinwerte unterlagen keiner Normalverteilung, weshalb diese in Tabelle 3.1 als Mediane (und 1. (unteres) bzw. 3. (oberes) Quartile) angegeben wurden, um einen besseren Überblick über die Verteilung bieten zu können.

### Änderungen nach der Exposition

Paarweise Vergleiche mit dem nicht-parametrischen Wilcoxon-Test zeigten für IFN- $\gamma$  keine signifikanten Änderungen nach einer der beiden Expositionen ( $p=0,310$  und  $p=0,162$  bei ABS bzw. PLA). Im Gegensatz dazu konnten signifikante Änderungen der Konzentrationen von IL-1 $\beta$ , IL-6, und TNF- $\alpha$  nach der Exposition mit ABS, sowie von IL-6 nach PLA-Exposition aufgezeigt werden (siehe Tabelle 3.2).

### Unterschiede zwischen den Expositionen/Materialien

Es wurde geprüft, ob diese Änderungen bei allen Analyten parallel auftreten und sich zwischen den Expositionen mit verschiedenen Materialien unterscheiden. Da die logarithmisch transformierten Werte näherungsweise einer Normalverteilung unterlagen, wurden diese zur weiteren Analyse verwendet (Verteilung beispielhaft für IL-6, siehe Abbildung 3.4).

Hierzu erfolgte eine Varianzanalyse (repeated-measures ANOVA) basierend auf dem allgemeinen linearen Modell (SPSS), bei der die Auswirkung der zwei Innersubjektfaktoren *Zeitpunkt* (vor, nach) und *Exposition* (ABS, PLA), sowie deren Interaktion *Expo-Zeit* untersucht wurde[128], siehe Tabelle 3.3 und deren grafische Darstellung in Abbildung 3.5.

Median (unteres; oberes Quartil)	ABS		PLA	
	vor	2-3 h nach	vor	2-3 h nach
IFN- $\gamma$ [pg mL $^{-1}$ ]	0,63 (0,44; 1,1)	0,75 (0,47; 1,3)	0,71 (0,53; 0,86)	0,72 (0,47; 1,2)
IL-1 $\beta$ [pg mL $^{-1}$ ]	15,8 (7,92; 46,7)	24,1 (17,5; 99,1)	20,8 (9,70; 49,4)	32,5 (19,0; 6,0)
IL-6 [pg mL $^{-1}$ ]	38,9 (12,5; 74,0)	68 (39,3; 150)	27,7 (17,9;74,3)	89,6 (46,6; 127)
TNF- $\alpha$ [pg mL $^{-1}$ ]	6,8 (5,8; 8,8)	7,8 (6,5; 13)	7 (5,9; 12)	9,6 (7,5; 12)

Tabelle 3.1.: Die Zytokinkonzentrationen im Nasensekret sind als Mediane (unteres; oberes Quartil) für die Messzeitpunkte *vor* und *2-3 h nach* der jeweiligen Exposition angegeben.

Analyt	Signifikanz <i>nach</i> minus <i>vor</i>	
	ABS	PLA
IFN- $\gamma$	0,310	0,162
IL-1 $\beta$	0,049*	0,269
IL-6	0,000**	0,000**
TNF- $\alpha$	0,012	0,055°

Tabelle 3.2.: Signifikanzwerte (p-Werte) des paarweisen, zweiseitigen Wilcoxon-Test zwischen Werte vor bzw. nach der Exposition für die vier Zytokine im Nasensekret. \*\*stark signifikant ( $<0,01$ ) \*signifikant ( $<0,05$ ) °grenzwertig signifikant ( $<0,1$ ).

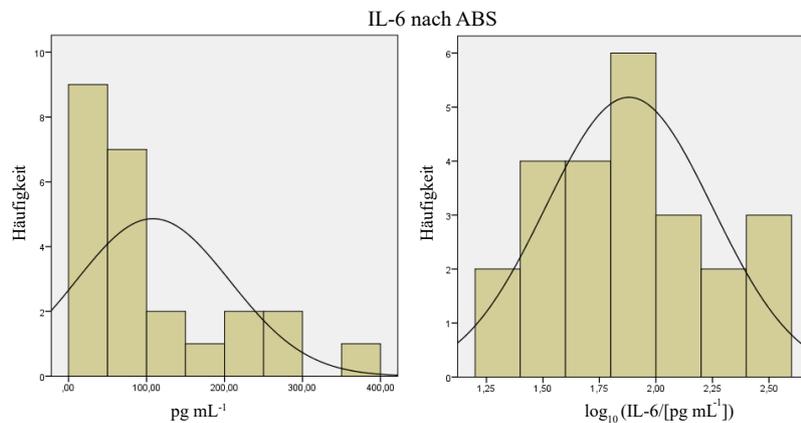


Abbildung 3.4.: Histogramm der Zytokinkonzentration von IL-6 nach der Exposition mit ABS als Druckmaterial inklusive Normalverteilungskurven. Rechts: logarithmierte Werte.

Faktoren	IFN- $\gamma$	IL-1 $\beta$	IL-6	TNF- $\alpha$
Exposition	0,353	0,456	0,170	0,123
Zeitpunkte	0,160	0,005**	0,000**	0,006**
Expo-Zeit	0,784	0,588	0,942	0,299

Tabelle 3.3.: Signifikanzwerte des Tests der Innersubjekteffekte der Faktoren *Zeitpunkte* (vor, nach), *Exposition* (ABS, PLA) und deren Produkt *Expo-Zeit* als Interaktion der beiden Faktoren. Es wurden die logarithmierten Zytokinwerte zur Berechnung benutzt. \*\*stark signifikant ( $<0,01$ )

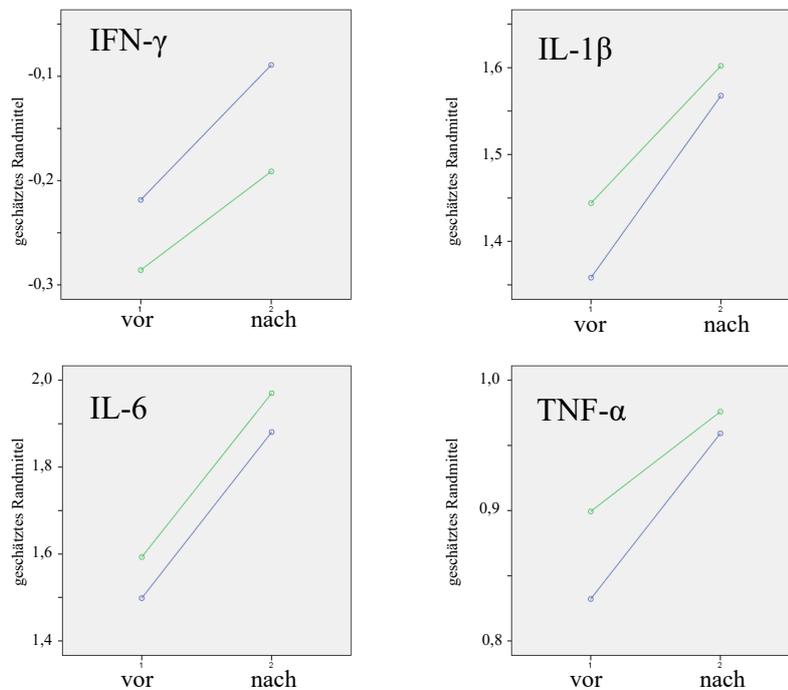


Abbildung 3.5.: Profildiagramme (Interaktionsdiagramme) zur visuellen Darstellung der Relationen der Innersubjektfaktoren. X-Achse: Zeitpunkte vor und nach der Exposition. Blau: ABS; Grün: PLA.

Für IFN- $\gamma$  waren keine signifikanten Änderungen feststellbar. Die Konzentrationen von IL-1 $\beta$  stiegen mit der Zeit signifikant ( $p=0,005$ , Tabelle 3.3) an, es zeigte sich jedoch kein signifikanter Unterschied/Interaktion zwischen den Expositionen/Materialien ( $p=0,588$ ). Dieses Muster zeigte sich ebenso für IL-6 ( $p<0.001$  bzw.  $p=0,942$ ) und TNF- $\alpha$  ( $p=0,006$  bzw.  $p=0,299$ ).

Diese Ergebnisse kennzeichnen einen signifikanten Anstieg der Werte nach den Expositionen, es gab jedoch keinen Unterschied zwischen den Materialien ABS und PLA.

Um zu klären, ob die Steigung des Anstiegs für diese Zytokine gleich war, wurde wieder eine Varianzanalyse mit Messwiederholung (repeated-measures ANOVA) durchgeführt. Dieses Mal wurden die Differenzen (*nach* minus *vor*) der logarithmisch transformierten Zytokinwerte der zwei Expositionen miteinander verglichen, um zwischen aktiver Freisetzung bestimmter Zytokine und gleichmäßiger Sekretion aller Zytokine aufgrund der Probenahme unterscheiden zu können. Das Ergebnis ist in Abbildung 3.6 dargestellt.

Es konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Expositionen ( $p=0,541$ ) gefunden werden, jedoch zeigte sich ein stark signifikanter Unterschied ( $p<0,001$ ) zwischen den Zytokinen. Der Anstieg von IL-6 war signifikant stärker als bei allen anderen Zytokinen (jeweils  $p<0,001$ ), um mindestens einen Faktor von 1,6 (siehe Abbildung 3.6). Diese differentielle Antwort deutet auf eine besonders starke Reaktion von IL-6 auf die wiederholte Probenahme hin.

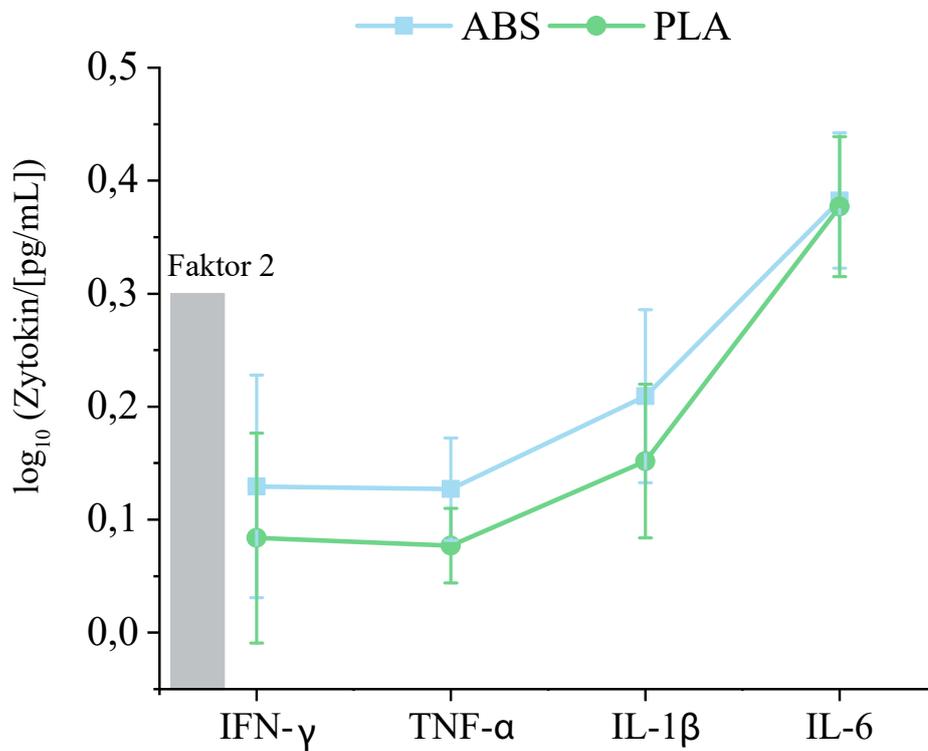


Abbildung 3.6.: Mittelwerte der logarithmierten Differenzen (*nach minus vor* Exposition) der vier Zytokine mit entsprechendem Standardfehler ( $\pm$ SEM) als Präzisionsangabe. Die Größe der logarithmischen Änderung, die dem Faktor 2 entspricht, ist angegeben. Die Abbildung ist Teil einer Grafik von Gümperlein et al. 2018.[86]

## Korrelation zwischen den Zytokinen

Um die Zytokinantwort genauer aufzuklären, erfolgte eine Korrelationsanalyse nach Pearson, deren Werte Tabelle 3.4 zu entnehmen sind. Bei beiden Expositionen waren die Reaktionen von IFN- $\gamma$  und TNF- $\alpha$  miteinander korreliert (jeweils  $p < 0,01$ ). Ähnlich dazu waren die Antworten von IL-1 $\beta$  und IL-6 korreliert (jeweils  $p < 0,001$ ). Die grafische Darstellung der Korrelationen ist in Abbildung 3.7 für IFN- $\gamma$  und TNF- $\alpha$  und in Abbildung 3.8 für IL-1 $\beta$  und IL-6 zu sehen.

Diese Korrelationscharakteristik wurde in einer versuchsweise durchgeführten Faktorenanalyse bestätigt, obwohl nur die Daten von 26 Probanden zur Verfügung standen und die Analyse somit als nur hinweisend gelten kann. Es wurden zwei Faktoren mit Eigenwerten  $\geq 1$  gefunden, die die Varianz aufklären.

Die Analyse ergab, dass die Werte von IL-1 $\beta$  und IL-6 innerhalb jeder Exposition miteinander korrelierten, wohingegen IFN- $\gamma$  und TNF- $\alpha$  nicht nur innerhalb, sondern auch zwischen den Expositionen miteinander korreliert waren. Dies kann auf einen Unterschied der Zytokinantworten zwischen den Expositionen bzw. den Materialien ABS und PLA hindeuten, trotz der Tatsache, dass die mittlere Antwort ähnlich und parallel ablief. Eine statistisch aussagekräftigere Analyse wäre Gegenstand einer Folgestudie, die eine größere Probandenzahl oder mehrere Wiederholungen der Exposition umfassen sollte.

	IFN- $\gamma$ ABS	IFN- $\gamma$ PLA	IL-1 $\beta$ ABS	IL-1 $\beta$ PLA	IL-6 ABS	IL-6 PLA	TNF- $\alpha$ ABS	TNF- $\alpha$ PLA
IFN- $\gamma$ ABS	Korrelation	1	,200	,139	,457*	,208	,347	,565**
	p	,348	,517	,025	,330	,097	,004	,117
IFN- $\gamma$ PLA	Korrelation	,200	1	-,303	,042	-,279	,035	,498**
	p	,348	,150	,839	,866	,253	,010	
IL-1 $\beta$ ABS	Korrelation	,139	-,303	1	,221	,736**	,234	-,397
	p	,517	,150	,298	,272	,165	,055	
IL-1 $\beta$ PLA	Korrelation	,457*	,042	,221	1	,327	,697**	,301
	p	,025	,839	,298	,118	,221	,136	
IL-6 ABS	Korrelation	,208	-,279	,736**	,327	1	,284	-,152
	p	,330	,187	,000	,118	,066	,179	,479
IL-6 PLA	Korrelation	,347	,035	,234	,697**	,381	,242	,123
	p	,097	,866	,272	,000	,066	,255	,549
TNF- $\alpha$ ABS	Korrelation	,565**	,243	,293	,259	,284	1	,333
	p	,004	,253	,165	,221	,179	,255	,112
TNF- $\alpha$ PLA	Korrelation	,328	,498**	-,397	,301	-,152	,333	1
	p	,117	,010	,055	,136	,479	,112	

Tabelle 3.4.: Korrelationsanalyse der logarithmierten Differenzen (*nach minus vor*) der vier Zytokine für beide Expositionen untereinander. Es ist der Korrelationskoeffizient nach Pearson und der Werte der 2-seitigen Signifikanz aufgetragen. \* Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,05 (2-seitig) signifikant. \*\* Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 (2-seitig) signifikant.

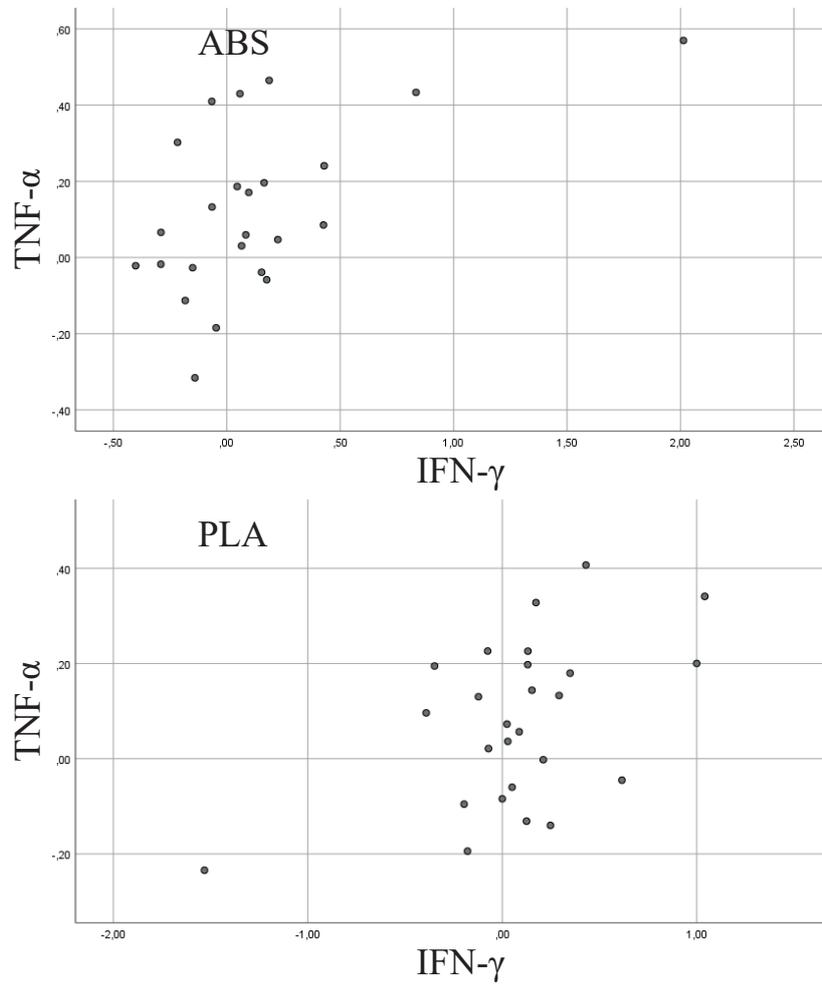


Abbildung 3.7.: Korrelationsgrafik der logarithmierten Differenzen (*nach* minus *vor*) der Zytokinwerte für IFN- $\gamma$  und TNF- $\alpha$ . Die Korrelation wurde jeweils durch einen Ausreißer stark beeinflusst. Oben: bei ABS-Exposition. Unten: bei PLA-Exposition.

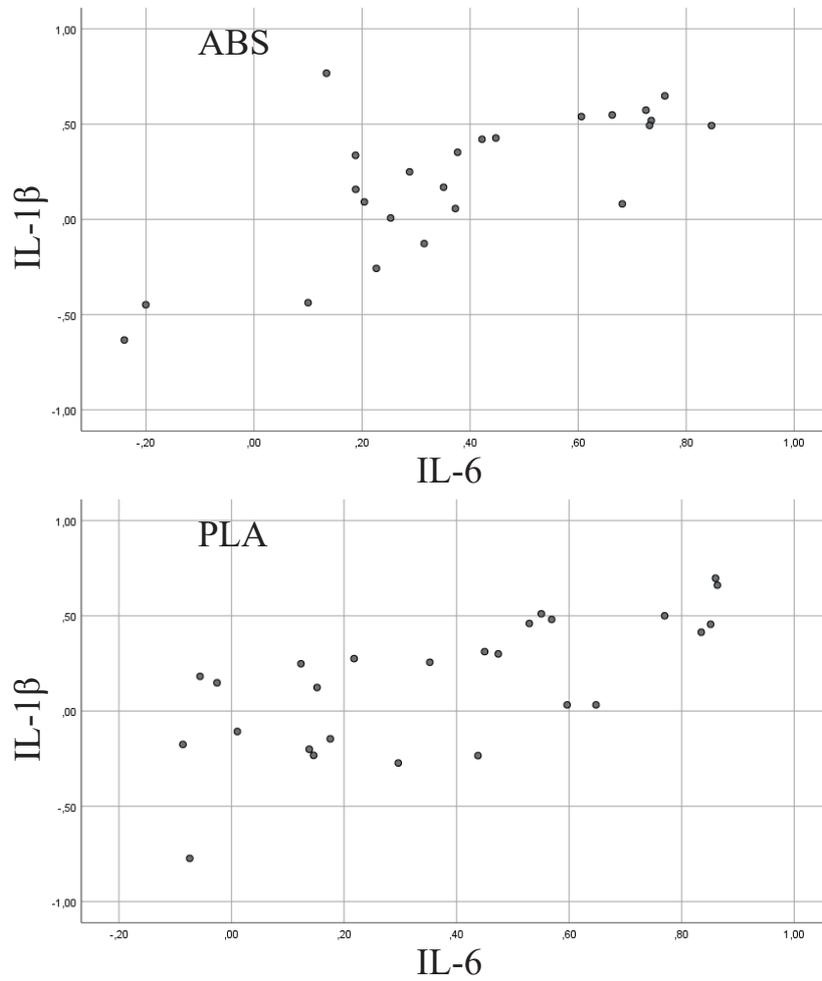


Abbildung 3.8.: Korrelationsgrafik der logarithmierten Differenzen (*nach* minus *vor*) der Zytokinwerte für IL-1 $\beta$  und IL-6. Oben: bei ABS-Exposition. Unten: bei PLA-Exposition.

Median (unteres; oberes Quartil)	ABS			PLA		
	vorher	2-3 h nach	p	vorher	2-3 h nach	p
ECP [ $\mu\text{g L}^{-1}$ ]	19,7 (1,00; 47,7)	25,4 (14,8; 134)	0,015*	18,4 (1,00; 40,1)	38,7 (14,8; 105)	0,006**

Tabelle 3.5.: Die Konzentrationen von ECP im Nasensekret als Mediane (unteres ; oberes Perzentil) für die Messzeitpunkte *vor* und *2-3 h nach* der jeweiligen Exposition. Der p-Wert (Wilcoxon Test) bezieht sich auf den Unterschied vor zu nach der Exposition. \*\*  $p < 0,01$  \* $p < 0,05$  . N=17.

### 3.2.2. Eosinophiles kationisches Protein (ECP)

Die Konzentrationen von ECP im Nasensekret sind Tabelle 3.5 zu entnehmen. Es standen Proben von 17 Probanden für die Bestimmung von ECP *vor* und *2-3 h nach* der jeweiligen Exposition zur Verfügung. Weder die Konzentrationen *vor* noch *2-3 h nach* der Exposition unterschieden sich signifikant voneinander. Jedoch war ein leichter, signifikanter Anstieg (jeweils  $p < 0,05$ ) nach beiden Expositionen sichtbar, welcher jedoch keinen signifikanten Unterschied zwischen den Expositionen aufwies. Zusätzlich wurde eine Korrelationsanalyse mit FeNO durchgeführt, die in Abschnitt 3.3.3 beschrieben wird.

### 3.3. Lungenfunktion und Biomarker in der Ausatemluft

#### 3.3.1. Exhalierendes Kohlenstoffmonoxid (CO)

Die CO-Konzentration in der Ausatemluft wurde vor jeder Exposition einmal gemessen, um den Nichtraucherstatus der Probanden zu bestätigen sowie vorausgegangene Expositionen gegenüber Rauch oder Abgasen auszuschließen. Die Werte der Voruntersuchung sowie jeweils vor den Expositionen können in Tabelle A.2 im Anhang A.1 nachgeschlagen werden.

Als Grenze zwischen unbelasteten Personen (Nichtraucher) und vorangehender Belastung wurde ein Wert von 5 ppm CO festgelegt, welcher nur ein einziges Mal um 1 ppm überschritten wurde. Die CO-Werte an den Messtagen für ABS und PLA unterschieden sich nicht signifikant ( $p=0,985$ , t-Test), eine zusätzliche Exposition der Probanden während der Messtage kann somit ausgeschlossen werden.

#### 3.3.2. Spirometrie

Die Einzeldaten der Spirometriemessungen können im Anhang A.1 in Tabelle A.1 nachgelesen werden. Die Messung im Zuge der Voruntersuchung diente dazu, Probanden mit Lungenfunktionswerten unterhalb des individuellen Normwertes auszuschließen. Abbildung 3.9 zeigt die Abweichung der Parameter in % vom jeweiligen Sollwert. Um die Vergleichbarkeit der Spirometriemessungen zu bestätigen, wurde eine Korrelation der Werte *vor* jeder Exposition bzw. am Voruntersuchungstag berechnet, welche stets auf dem gleichen Niveau lagen, siehe dazu Tabelle 3.6. Weder  $FEV_1$  noch FVC zeigten statistisch signifikante Veränderungen beim Vergleich der Werte *vor* und *direkt nach* Exposition. Die Mittelwerte der Spirometriemesswerte sind in Tabelle 3.7 eingetragen. Die grafische Darstellung (Abbildung 3.10) zeigt den parallelen Verlauf der Parameter.

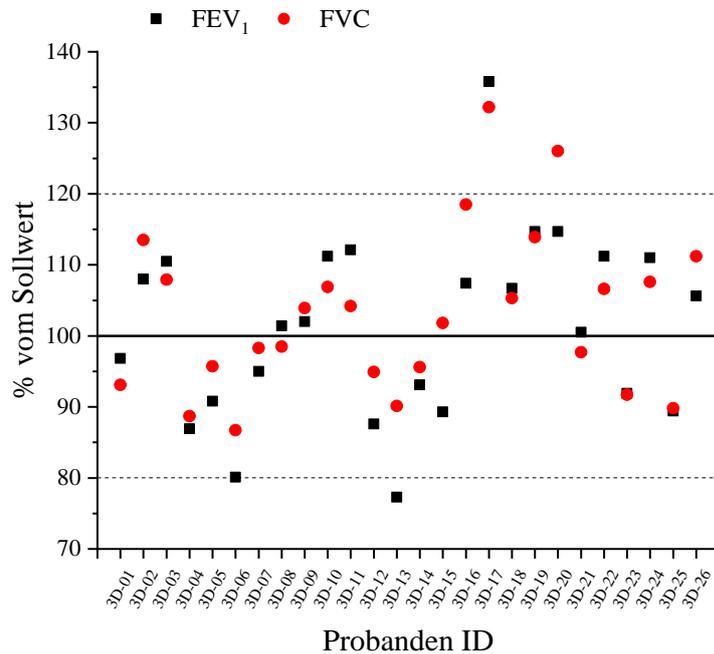


Abbildung 3.9.: Lungenfunktionsparameter FEV<sub>1</sub> und FVC bei der Voruntersuchung als prozentuale Abweichung vom jeweiligen Sollwert. Die Werte eines Probanden (3D-13) waren leicht erniedrigt. Dieser zeigte jedoch weder bei den weiteren Spirometriemessungen Veränderungen, noch beeinflusste ein Ausschluss dieser Werte die Ergebnisse der statistischen Auswertung.

	N	Korrelation	Signifikanz	
FEV <sub>1</sub>	Voruntersuchung & vor ABS	26	0,977	≤0,001**
	Voruntersuchung & vor PLA	26	0,978	≤0,001**
	vor ABS & vor PLA	26	0,988	≤0,001**
FVC	Voruntersuchung & vor ABS	26	0,901	≤0,001**
	Voruntersuchung & vor PLA	26	0,876	≤0,001**
	vor ABS & vor PLA	26	0,985	≤0,001**

Tabelle 3.6.: Korrelation der FEV<sub>1</sub> bzw. FVC Werte vor den Expositionen bzw. an der Voruntersuchung (Korrelation bei gepaarten Stichproben; 26 Probanden). \*\* p < 0,001; stark signifikant.

Mittelwerte ( $\pm$ SD)	ABS		PLA	
	vor	direkt nach	vor	direkt nach
FEV <sub>1</sub> [L]	4,2 ( $\pm$ 0,82)	4,2 ( $\pm$ 0,81)	4,2 ( $\pm$ 0,83)	4,2 ( $\pm$ 0,81)
FVC [L]	5,2 ( $\pm$ 1,0)	5,1 ( $\pm$ 1,0)	5,2 ( $\pm$ 1,0)	5,1 ( $\pm$ 1,0)

Tabelle 3.7.: Mittelwerte ( $\pm$  Standardabweichung) von FEV<sub>1</sub>(Einsekundenkapazität) und FVC (forcierte Vitalkapazität) beider Expositionen an zwei Zeitpunkten.

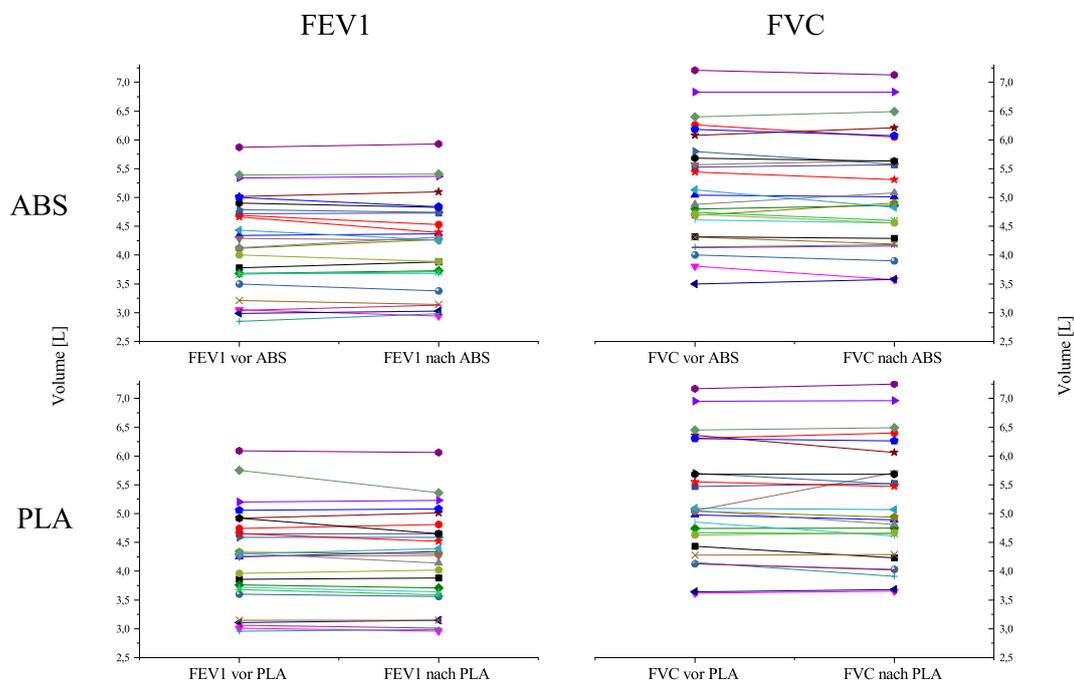


Abbildung 3.10.: Verlauf der Parameter FEV<sub>1</sub> und FVC (Spalten) jeweils *vor* und *direkt nach* beiden Expositionen (Zeilen). Jede Farbe stellt einen Probanden dar. Es konnten keine signifikanten Änderungen beobachtet werden.

### 3.3.3. Exhalierendes Stickstoffmonoxid (FeNO )

FeNO-Werte in ppb (*parts per billion* =  $10^{-7}$  Volumenprozent) sind in Tabelle 3.8 aufgeführt. Nur ein Proband zeigte an beiden Expositionstagen FeNO-Werte über dem Wert von 50 ppb, obwohl dieser bei der Voruntersuchung im normalen Bereich lag. Ein Unterschied zwischen Voruntersuchung und Expositionstagen ist verständlich, da der erste Termin einige Monate vor den Expositionstagen lag. Dennoch ist für die Auswertung mehr von Interesse, dass die Vergleichbarkeit der Werte vor Exposition an beiden Expositionstagen gewährleistet ist, was hier der Fall war. Da sich das Ergebnis der statistischen Auswertung in Hinsicht auf das Auftreten statistischer Signifikanzen bei Ausschluss dieses Probanden nicht änderte, wurden diese Werte in der Auswertung beibehalten.

Der paarweise Vergleich der FeNO-Werte mit dem nicht-parametrischen Wilcoxon-Test ist in Tabelle 3.9 aufgeführt. Die Werte jeweils vor den Expositionen (Grundlinie) unterschieden sich nicht signifikant ( $p=0,521$ , t-Test) voneinander. Die geometrischen Mittel ( $\div$  geometrische SD) lagen bei 18,1 ( $\div$  1,7) ppb vor den Expositionen mit ABS und bei 18,0 ( $\div$  1,7) ppb vor PLA. Die Auswertung erfolgte ebenso mit logarithmierten Werten, da die FeNO-Daten nicht normalverteilt vorlagen (Shapiro-Wilk-Test). Die Differenzen der Werte zwei Stunden nach der Exposition und den vorher gemessenen Werten unterschieden sich signifikant ( $p=0,026$ ) zwischen den Materialien. Nach Logarithmierung der Werte war dieser Unterschied noch grenzwertig signifikant vorhanden ( $p=0,058$ ).

Der zeitliche Verlauf wurde mit einer Varianzanalyse mit Messwiederholung (repeated-measures ANOVA) untersucht, wobei die drei Zeitpunkte und die beiden Materialien als Kategorien gesetzt wurden (siehe Abbildung 3.11).

Trotz der nicht signifikanten Unterschiede zwischen den Expositionen (siehe Tabelle 3.10), lag sowohl bei den Zeitpunkten ( $p=0,057$ ), als auch beim unterschiedlichen Zeitverlauf der zwei Expositionen (*Expo\*Zeit*) ( $p=0,084$ ) ein grenzwertig signifikanter Unterschied nach dem allgemeinen linearen Modell vor. Wurde beim Test der Innersubjektkontraste (Tabelle 3.11) ein quadratisches Modell gewählt, konnte der allgemeine zeitliche Verlauf durch ein parabolisches Muster ( $p=0,016$ ) beschrieben werden. Ein zusätzlicher linearer Term ( $p=0,028$ ) war für die Unterschiede im Zeitverlauf zwischen den Materialien verantwortlich.

# Proband	Vorunters.	ABS			PLA		
		vor	direkt nach	2-3 h nach	vor	direkt nach	2-3 h nach
01	10,81	8,57	8,54	8,47	9,21	10,14	10,90
02	20,05	13,71	14,99	12,63	15,87	15,67	16,77
03	28,78	45,45	40,64	37,54	37,89	35,14	28,64
04	10,13	10,13	12,79	9,52	9,15	10,54	7,77
05	40,20	26,42	28,78	27,73	21,32	25,63	23,38
06	10,87	13,21	11,80	17,73	15,96	14,77	13,03
07	24,98	21,61	25,25	21,94	21,58	23,77	22,74
08	26,77	26,35	28,88	28,79	21,62	21,34	18,68
09	12,93	11,27	9,91	9,36	12,17	12,89	11,06
10	26,47	26,10	27,64	24,79	23,48	22,24	23,44
11	18,67	14,82	12,76	13,90	16,55	13,86	12,73
12	26,01	18,70	21,24	19,83	21,32	25,10	18,12
13	19,80		11,46	10,00	8,02	9,99	9,63
14	14,80	12,95	13,09	11,92	12,35	12,22	13,29
15	17,38	14,82	14,94	14,39	16,10	13,58	14,93
16	14,50	13,72	12,34	12,78	13,83	14,32	13,71
17	16,84	16,73	22,54	19,54	27,79	21,52	20,71
18	15,92	12,21	17,89	19,87	9,07	9,03	8,23
19	9,94	7,39	9,14	10,12	8,07	8,21	9,36
20	31,33	68,26	78,86	75,84	64,39	74,00	67,92
21	25,15	36,78	39,34	41,86	31,05	37,64	31,56
22	17,91	11,08	12,54	12,85	11,06	11,06	13,49
23	24,61	14,66	15,39	16,36	28,50	28,22	17,54
24	48,49	41,41	46,31	44,56	42,35	42,52	43,51
25	21,02	20,07	20,37	20,74	19,68	19,19	21,52
26	26,95	24,65	26,38	28,34	22,86	26,53	24,65
geom. Mittelwert	19,88	18,14	19,04	18,68	18,01	18,43	17,30
geom. SD	÷1,50	÷1,71	÷1,72	÷1,72	÷1,69	÷1,70	÷1,70

Tabelle 3.8.: FeNO-Werte in ppb für alle sieben Zeitpunkte (Voruntersuchung, sowie *vor*, *direkt nach* und *2-3h nach* beiden Expositionen) pro Proband. Ein Wert fehlt aufgrund eines Gerätefehlers. Die geometrischen Mittelwerte mit entsprechender geometrischer Standardabweichung (geom. SD) sind angegeben.

Unterschied ABS zu PLA	p-Werte	
	original	log <sub>10</sub>
<i>vor</i>	0,767	0,925
<i>direkt nach</i>	0,118	0,328
<i>2-3 h nach</i>	0,080	0,131
Differenz <i>direkt nach</i> minus <i>vor</i>	0,211	0,166
Differenz <i>2-3 h nach</i> minus <i>vor</i>	0,026*	0,058 <sup>o</sup>

Tabelle 3.9.: Wilcoxon-Test der FeNO-Werte auf Signifikanz (2-seitig) zwischen den Expositionen mit ABS und PLA. Gegenüberstellung der Werte *vor*, *direkt nach* und *2-3 h nach* den Expositionen, sowie der Differenzen *direkt nach* minus *vor* und *2-3 h nach* minus *vor*. Erste Spalte: Signifikanzwerte aus Originalwerten berechnet. Zweite Spalte: Signifikanzwerte aus logarithmierten Werten berechnet. \*Signifikant  $p \leq 0,05$ . <sup>o</sup>Grenzwertig signifikant  $p \leq 0,1$ .

Faktoren	p-Wert
Exposition	0,498
Zeitpunkte	0,057
Expo*Zeit	0,084

Tabelle 3.10.: Signifikanzwerte für FeNO mit Test der Innersubjektfaktoren *Zeitpunkte* (*vor*, *nach*), *Exposition* (ABS, PLA) und deren Produkt *Expo\*Zeit* als Interaktion der beiden Faktoren. Es wurden die logarithmierten FeNO-Werte zur Berechnung benutzt.

Maß: log <sub>10</sub> NO	Tests der Innersubjektkontraste			
	Quelle	Expo	Zeit	p-Wert
Expo	Fehler(Expo)	Linear		0,498
		Linear		
Zeit	Fehler(Zeit)	Linear		0,904
		Quadratisch		0,016**
Expo * Zeit	Fehler(Expo * Zeit)	Linear		0,028**
		Quadratisch		0,966

Tabelle 3.11.: Test der Innersubjektkontraste (Allgemeines lineares Modell, SPSS) der logarithmierten FeNO-Werte. \*\*  $p < 0,05$ . Vergleiche dazu Abbildung 3.11.

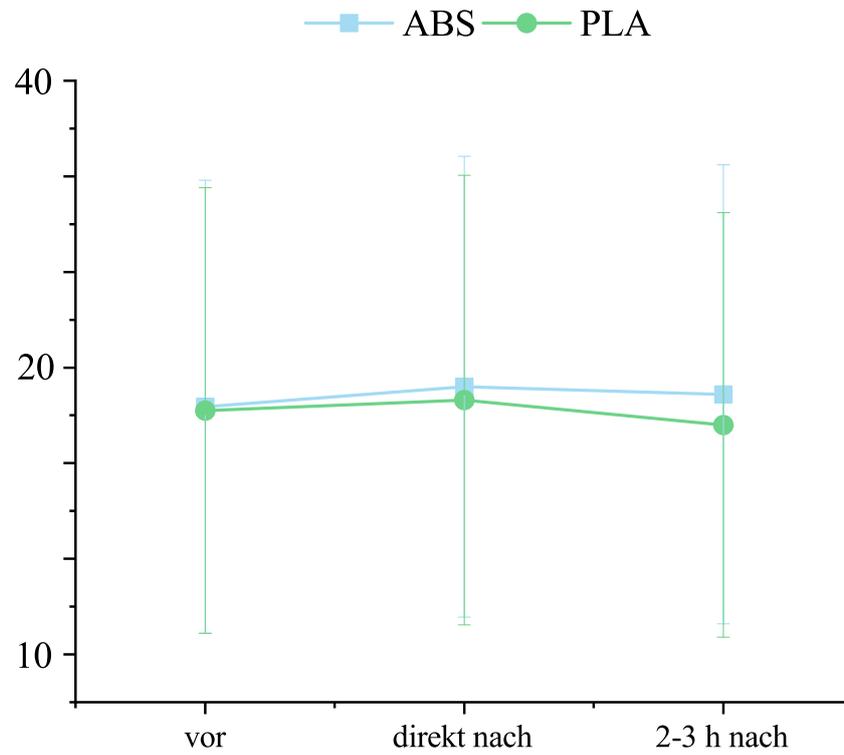


Abbildung 3.11.: Mittelwerte der logarithmierten FeNO-Werte zu den drei Zeitpunkten für beide Materialien. Abbildung aus Gümperlein et al. 2018[86]; nachträglich koloriert.

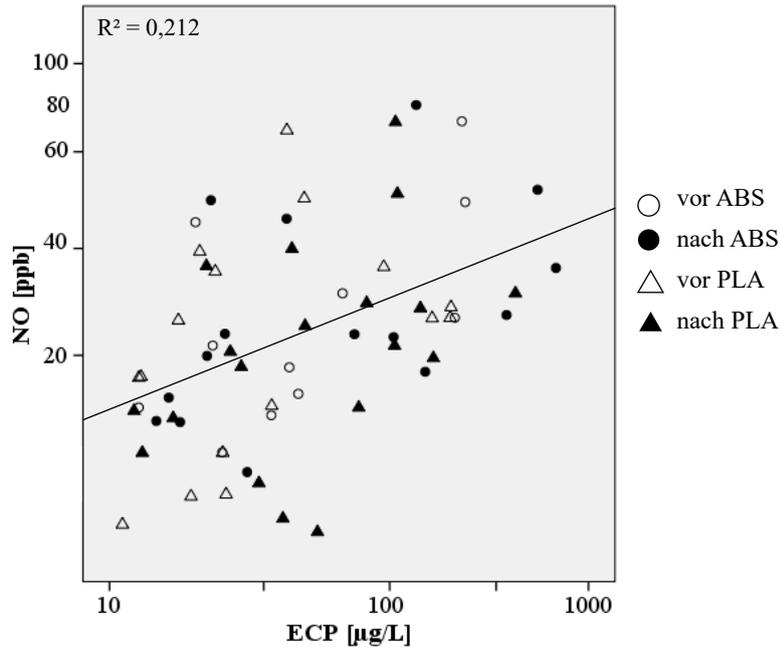


Abbildung 3.12.: Korrelation der FeNO- und ECP-Werte für die Zeitpunkte *vor* und *2-3h nach* beiden Expositionen. Dieses Korrelationsmuster lässt auf eine bemerkenswert „gute“ Wechselbeziehung schließen, da bedacht werden muss, dass beide Marker aus verschiedenen Bereichen der Atemwege kommen. Die Proben, bei denen eine ECP-Bestimmung unterhalb der unteren Nachweisgrenze fiel, wurden hierbei ausgeschlossen. Aus einem linearen Fit errechnete sich das Bestimmtheitsmaß mit  $R^2 = 0,212$ , entsprechend einem Korrelationskoeffizienten von 0,46. Abbildung aus Gümperlein et al. 2018[86]; Trendlinie nachträglich eingefügt.

### Korrelation von ECP und FeNO

Um die Belastbarkeit der FeNO-Ergebnisse zu überprüfen, wurde die Korrelation zu den ECP-Werten analysiert, da beide Parameter mit der Eosinophilenanzahl verbunden sind. Erhöhtes FeNO wird als Marker für Eosinophilie verwendet, ECP wiederum wird in den Granula der eosinophilen Granulozyten gespeichert und ist somit ein Marker für deren Konzentration. Es standen  $N=61$  Werte für die Korrelationsanalyse nach Pearson zur Verfügung, wobei sich eine signifikante ( $p \leq 0,001$ ) Korrelation (Korrelationskoeffizient nach Pearson 0,461) zwischen den ECP- und FeNO-Ergebnissen zeigte, welche in Abbildung 3.12 dargestellt ist. Hierbei wurde allerdings nicht berücksichtigt, dass die Werte per Wiederholungsmessung gekoppelt waren.

### 3.4. Biomarker für oxidativen Stress im Urin

Bei der Analyse von Isoprostanen, wie auch für alle anderen Biomarkern im Urin, ist es üblich, die Ergebnisse auf das jeweilige Kreatininlevel zu normieren. Die Aussagekraft dieser Werte für Isoprostane wird jedoch angezweifelt.[129] Tatsächlich variierten die Kreatininkonzentrationen der Probanden enorm zwischen den Werten *vor* und *direkt nach* bzw. *2-3h nach* der Exposition. Da die Urine aufgrund der wiederholten Probenahme mitunter stark verdünnt waren, wurde ein Akzeptanzbereich von 20 – 250 mg/dL Kreatinin festgelegt. Obwohl 25 der 182 Urinproben außerhalb dieses Bereichs lagen, wurden keine grundlegenden Änderungen der Resultate beobachtet, wenn diese Proben aus der Analyse ausgeschlossen wurden. Die Auswertung der 8 – *iso* – *PGF*<sub>2 $\alpha$</sub> -Konzentrationen im Urin erfolgte nun für alle Probanden jeweils mit und ohne Normierung auf das jeweilige Kreatininlevel, siehe Tabelle 3.12.

Bei der Analyse der unnormierten, logarithmisch transformierten Werte per ANOVA für wiederholte Messungen wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Expositionen (Materialien) ( $p=0,093$ ), jedoch eine signifikante zeitliche Änderung ( $p=0,003$ ) beobachtet, siehe Abbildung 3.13. Dieselbe Analyse mit auf Kreatinin normierten Werten zeigte ebenfalls keinen signifikanten Unterschied zwischen den Expositionen ( $p=0,188$ ), sowie keinen signifikanten zeitlichen Effekt ( $p=0,154$ ). Unabhängig von der Wahl der Einheit lassen diese Daten auf keinen differentiellen Effekt der Expositionen schließen.

Obwohl keine signifikanten Änderungen messbar waren, ließen sich für bestimmte Probanden einzelne Muster erkennen. Dazu dient Abbildung 3.14, in der die Verläufe der Werte für alle Probanden dargestellt sind. Proband 04 beispielsweise zeigte einen klaren Anstieg nach ABS-Exposition und einen Abfall nach PLA-Exposition, wobei eine Normierung auf das Kreatininlevel nur einen geringen Einfluss zu haben schien. Dennoch ergab sich kein einheitlicher Trend des Verlaufs der 8 – *iso* – *PGF*<sub>2 $\alpha$</sub> -Konzentrationen im Urin nach den Expositionen.

geometrisches Mittel (÷ geometrische SD)	ABS			PLA		
	vor	direkt nach	2-3 h nach	vor	direkt nach	2-3 h nach
8-iso-PGF <sub>2α</sub> [ng L <sup>-1</sup> ]	232 (÷ 2,40)	137 (÷ 2,33)	174 (÷ 1,88)	327 (÷ 2,06)	146 (÷ 2,28)	190 (÷ 2,36)
8-iso-PGF <sub>2α</sub> [ng/g Kreatinin]	209 (÷ 2,00)	257 (÷ 2,15)	262 (÷ 1,82)	235 (÷ 1,94)	302 (÷ 1,94)	271 (÷ 2,06)

Tabelle 3.12.: Konzentrationen von 8-iso-PGF<sub>2α</sub> im Urin als geometrischer Mittelwert und zugehöriger geometrischer Standardabweichung, da die Daten nicht normalverteilt vorlagen. Es konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den Materialien festgestellt werden.

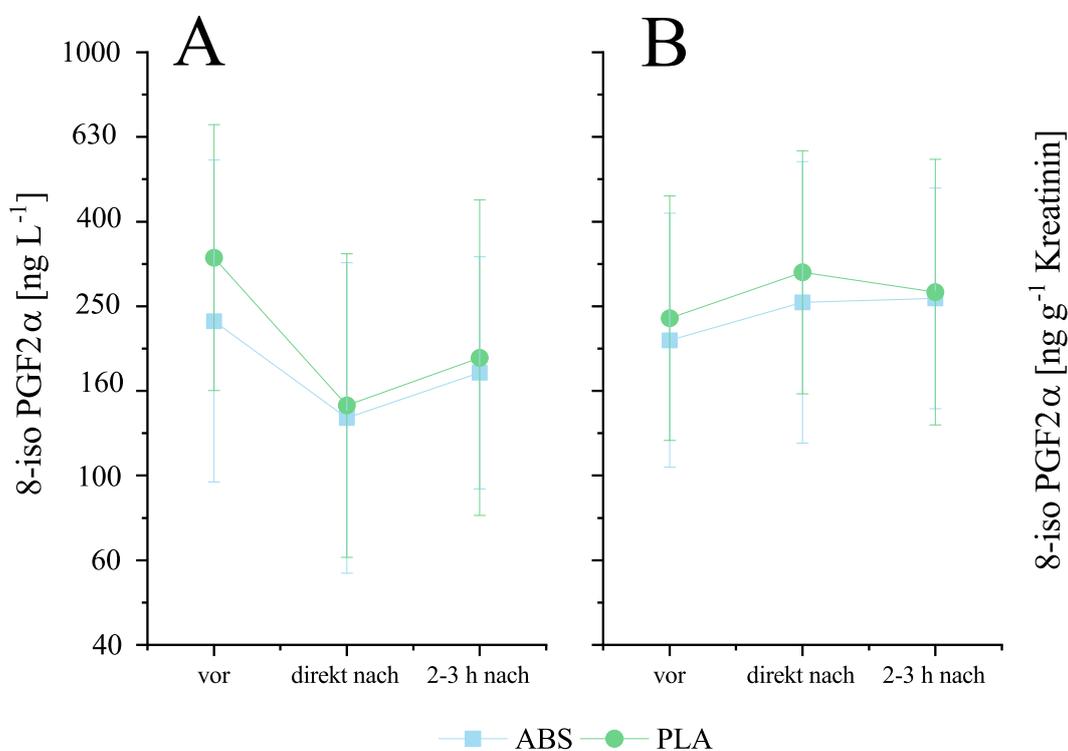


Abbildung 3.13.: Mittelwerte ( $\pm$ Standardabweichung) der logarithmierten 8-iso-PGF<sub>2α</sub>-Konzentrationen im Urin. A) Nicht normierte Werte. B) Auf Kreatinin normierte Werte. Grafik aus Gümperlein et al. 2018[86]; nachträglich koloriert.

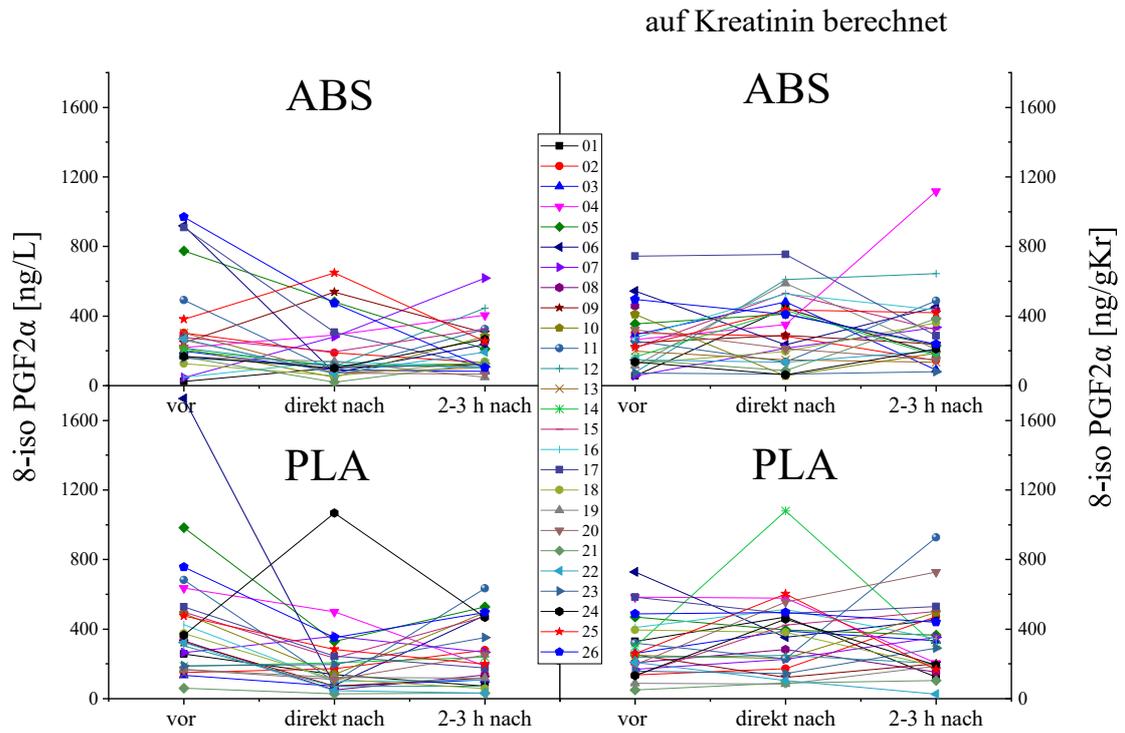


Abbildung 3.14.: Verläufe der 8-*iso*- $PGF_{2\alpha}$ -Konzentrationen im Urin für alle Probanden. Zeilen: verschiedene Expositionen. Spalten: Werte in  $\text{ngL}^{-1}$  bzw. auf Kreatinin berechnet in  $\text{ng/gKreatinin}$ .

### 3.5. Fragebögen

Die Charakterisierung der Sensitivität gegen Umweltreize der Probandengruppe erfolgte mit acht Fragen des CAUS-Fragebogens (siehe Anhang A.2). Der Medianwert aller Fragen war 2.5 bei einer Antwortmöglichkeit von 1 (nicht zutreffend) bis 5 (stark zutreffend). Drei Probanden kreuzten erhöhte Werte von 4 an und zeigten damit eine erhöhte selbstberichtete Sensitivität. Diese Probanden wiesen jedoch weder erhöhten Werte bei den anderen Messungen noch erhöhte Antworten bei dem Symptomfragebogen auf.

Die Antworten für jede Frage des Symptomfragebogens sind in Abbildung 3.15 gezeigt. Aufgrund der stark asymmetrischen, und somit nicht gaußförmigen, Verteilung der Antworten auf der linearen Skala (bestätigt mit Shapiro-Wilk-Test auf Normalverteilung), wurde mit dem nicht-parametrischen Wilcoxon Test für verbundene Stichproben getestet. Bei keinem Symptom war ein signifikanter Unterschied zwischen den Expositionen sichtbar (vgl. Tabelle 3.13). Dies war auch nicht der Fall, wenn Symptomgruppen gebildet wurden, d.h. nach Gruppieren von Symptomen bezogen auf die Nase (z.B. juckende Nase und brennende Nase) bzw. auf die Augen, den Hals/Rachen, die Atemwege oder den Kopf/Kreislauf. Keines der Gesamtscores der Symptomgruppen zeigte einen signifikanten Unterschied zwischen den Materialien.

Grafik 3.16 zeigt die Antworten zu den Fragen zur allgemeinen Wahrnehmung des Druckprozesses bzw. des Geruchs. Die Antworten zur *allgemeinen Beeinträchtigung* ( $p=0,098$ ) und zur *Geruchswahrnehmung* ( $p=0,726$ ) zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Materialien ( $p$ -Wert bei einem Signifikanzniveau von 0,05, siehe 3.13). Allerdings konnte bei den Antworten zum *Wohlbefinden* ( $p=0,007$ ) und zur *Belästigung durch den Geruch* ( $p=0,015$ ) ein signifikanter Unterschied zwischen den Materialien festgestellt werden. Hier zeigte sich, dass während eines einstündigen Druckes mit ABS das Wohlbefinden signifikant sank, sowie die Geruchsbelästigung signifikant stieg, im Vergleich zum gleichen Druck mit PLA.

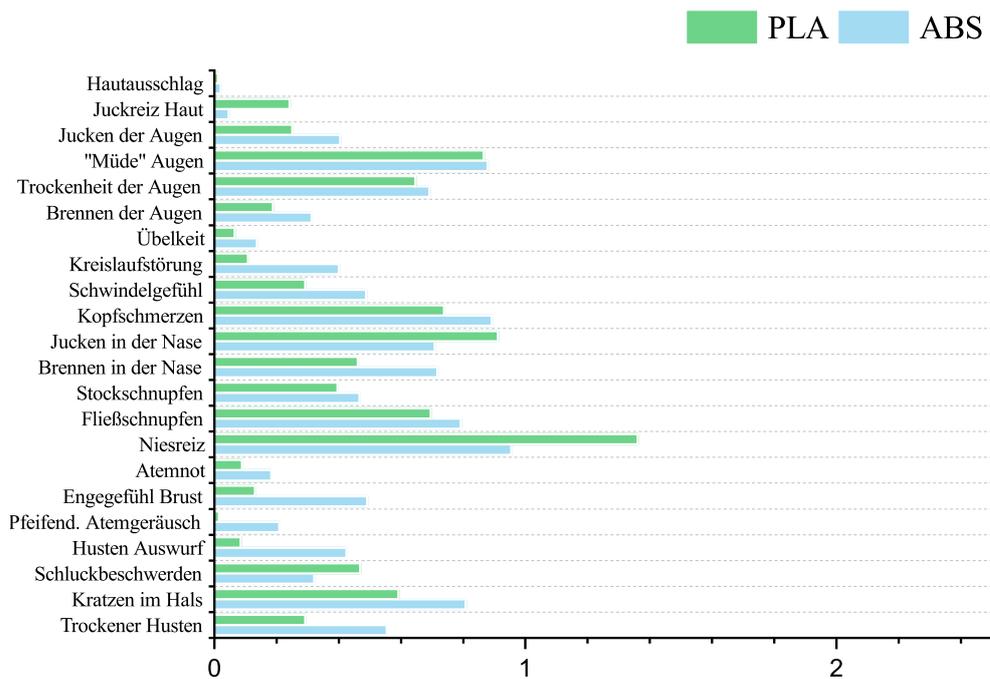


Abbildung 3.15.: Mittelwerte der Antworten aller 26 Probanden für die Fragen nach Symptomen. Als Antwortmöglichkeit diente eine lineare Skala von 1 (überhaupt nicht) bis 10 (sehr stark). Die Abbildung ist Teil einer Grafik aus Gümperlein et al. 2018[86] und wurde ins Deutsche übersetzt.

Symptom nach ABS vs. PLA	p-Wert
Trockener Husten	0,623
Kratzen im Hals	0,638
Schluckbeschwerden	0,463
Husten mit Auswurf	0,498
Pfeifendes Atemgeräusch	0,144
Engegefühl in der Brust	0,271
Atemnot	0,500
Niesreiz	0,666
Fließschnupfen	0,495
Stockschnupfen	0,236
Brennen der Nase	0,173
Jucken der Nase	0,700
Kopfschmerzen	0,706
Schwindelgefühl	0,237
Kreislaufstörung	0,176
Übelkeit	0,655
Brennen der Augen	0,600
Trockenheit der Augen	0,755
Müde Augen	0,965
Jucken der Augen	1,000
Juckreiz der Haut	0,180
Hautausschlag	0,317
Wohlbefinden insgesamt	<b>0,007*</b>
Wahrnehmung des Geruchs	0,726
Belästigung durch den Geruch	<b>0,015*</b>
Beeinträchtigung insgesamt	0,098
Symptome_Nase	0,848
Symptome_Augen	0,494
Symptome_Hals	0,532
Symptome_Respiratorisch	0,241
Symptome_Kopf_Kreislauf	0,205
Symptome_alle	0,775

Tabelle 3.13.: P-Werte (2-seitig) der Unterschiede zwischen den Expositionen gegenüber ABS und PLA bei verbundenen Stichproben (Wilcoxon-Test). \*  $p < 0,05$ . Die gruppierten Symptome sind wie folgt zusammengefasst: Symptome\_Nase: Niesreiz, Fließschnupfen, Stockschnupfen, brennende Nase, juckende Nase; Symptome\_Augen: Brennende Augen, trockene Augen, müde Augen, juckende Augen; Symptome\_Hals: Trockener Husten, Kratzen im Hals, Schluckbeschwerden; Symptome\_Respiratorisch: Husten mit Auswurf, pfeifendes Atemgeräusch, Engegefühl Brust, Atemnot; Symptome\_Kopf\_Kreislauf: Kopfschmerzen, Schwindelgefühl, Kreislaufstörung, Übelkeit;

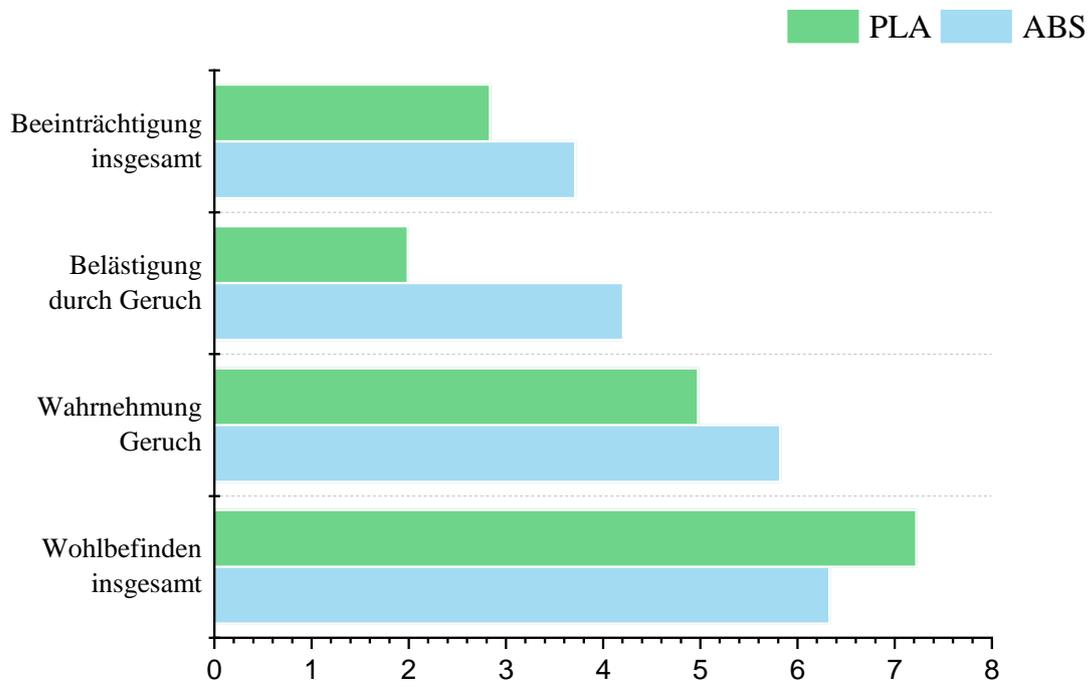


Abbildung 3.16.: Mittelwerte der Antworten aller 26 Probanden zum Teil des Symptomfragebogens, der sich auf die allgemeine Wahrnehmung des Druckprozesses/Geruchs bezieht. Als Antwortmöglichkeit diente eine lineare Skala von 1 (äußerst schlecht/gar nicht) bis 10 (äußerst gut/äußerst stark). Die Antworten zur *Belästigung durch den Geruch* und zum *Wohlbefinden insgesamt* unterschieden sich signifikant zwischen den Expositionen. Die Abbildung ist Teil einer Grafik aus Gümperlein et al. 2018[86] und wurde ins Deutsche übersetzt.

## 3.6. VOC-Emission

Wie für die Partikelemission von 3D-Druckern gibt es auch für die VOC-Emission bereits einige Daten der Literatur [7, 8, 11, 10, 9]. Da jedoch Beimischungen zum Material nicht angegeben werden (müssen), können Filamente des gleichen Materials von verschiedenen Herstellern große Variationen aufweisen. Deshalb sollte jedes Material separat einer Prüfung unterzogen werden, um es mit den Literaturdaten vergleichen zu können.

In dieser Studie war es nicht möglich, VOC-Emissionen während der Expositionen zu messen, weshalb eine externe Messung der VOC-Emission bei den gleichen Temperaturen wie beim 3D-Druck nachgestellt wurde (siehe dazu Kapitel 2.4). Via HPLC wurden die gängigsten Aldehyde und Ketone (Carboxyl-Mix) quantifiziert. Die rein qualitative Analyse per GC-MS/MS (Gaschromatografie mit Tandem-Massenspektrometer) beschränkte sich auf Substanzen, die bereits von anderen Forschungsgruppen in Emissionen von 3D-Druckern detektiert worden sind.

### 3.6.1. Substanzanalyse per GC-MS/MS

Bei der Analyse der Emissionen von erhitztem Filament per Gaschromatografie und SPME-Faser wurde nach Substanzen gesucht, die bereits von Wojtyła et al. (2017)[13] und Stefaniak et. al (2017)[10] in ABS- und PLA-Emissionen detektiert worden sind: Aceton, Acetophenon, Cyclohexanon, Ethylbenzol, Pentane, Styrol und Toluol. Aufgrund des gegebenen Versuchsaufbaus mit SPME-Faser (siehe Kapitel 2.4) erfolgte die Analyse per GC-MS/MS nur qualitativ.

Die Drucktemperatur der Materialien ABS und PLA unterscheidet sich im allgemeinen um 50-80 °C. Die Ergebnisse der Messungen in Abbildung 3.17 zeigen, dass sich mit zunehmender Temperatur zwar die Menge der VOCs steigert, sich die Zusammensetzung der Substanzen jedoch kaum verändert. Obwohl nur sehr wenig Material eingesetzt wurde (0,005 g ABS und 0,05 g PLA), konnten mehrere Substanzen klar nachgewiesen werden. Der Versuchsaufbau spiegelt sicherlich kein realistisches Expositionsszenario wieder, trotzdem können die gefundenen Substanzen Anhaltspunkte für eine mögliche gesundheitsschädliche Wirkung darstellen.

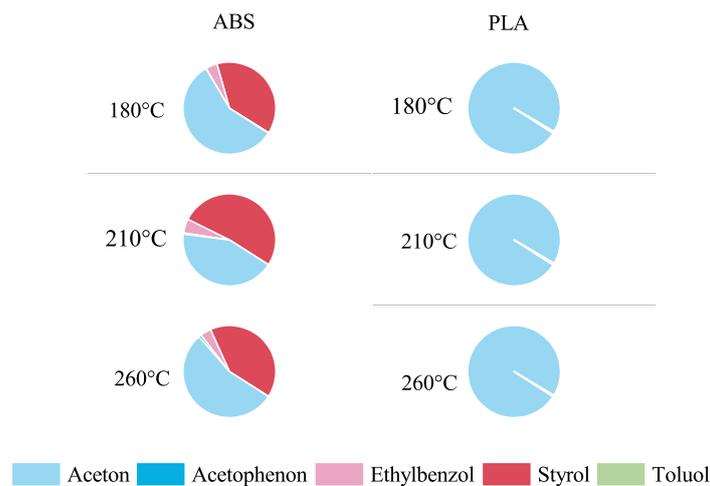


Abbildung 3.17.: Anteile der detektierten Substanzen in der Gasphase über dem erhitzten Material ABS (0,005 g) bzw. PLA (0,05 g) bei drei Temperaturen. Bei Änderung der Temperatur veränderte sich die Verteilung der Substanzen kaum. Die Emissionen wurden mit einer PDMS/DVB SPME-Faser gesampelt und mit einem GC-MS/MS-System analysiert.

### 3.6.2. Aldehyde/Ketone per HPLC

Die Messung der Emissionen von erhitztem Filament bei verschiedenen Temperaturen mit SPME-Faser (siehe Abbildung 3.17) zeigte, dass sich das Emissionsmuster mit der Temperatur nur leicht änderte. Deshalb wurden für die HPLC-Messungen die Materialien bei ihrer entsprechenden Drucktemperatur (230 °C für ABS und 180 °C für PLA) untersucht.

Abbildung 3.19 zeigt das Chromatogramm bei der Analyse der DNPH-Kartuschen von Umgebungsluft- bzw. ABS- und PLA- Proben. Ein noch vorhandener DNPH-Peak beweist, dass für alle Substanzen in den Kartuschen genügend DNPH vorhanden war, um den DNPH-Komplex zu bilden und detektiert zu werden.

Der Versuchsaufbau mit Einsaugung der Gasphase durch DNPH-Kartuschen für 1 h entsprach, im Vergleich zu einer Beprobung mit SPME-Faser, mehr einer realistischen Expositionssituation. Abbildung 3.18 zeigt das Emissionsmuster von erhitztem ABS und PLA (jeweils gedrucktes Objekt (ca. 5 g) wie bei den Probandenexpositionen) bei den materialspezifischen Temperaturen.

Die Ergebnisse der HPLC Untersuchungen sind in Tabelle 3.14 zusammengefasst. Zur

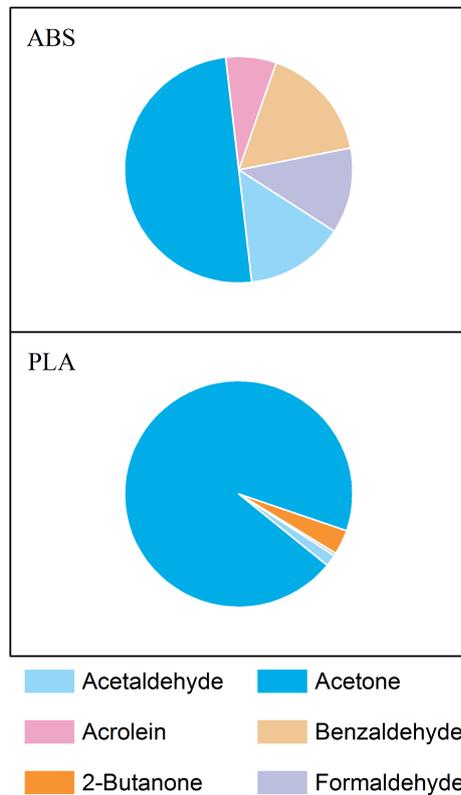


Abbildung 3.18.: Anteile der Aldehyde in der Gasphase über 5 g erhitztem Material (230 °C für ABS und 180 °C für PLA). Die DNPH-Kartuschen wurden 1 h exponiert. Diese Grafik ist Teil der „Supporting Information“ von Gümperlein et al. 2018[86].

besseren Einordnung der Werte wurden die Orientierungswerte der Arbeitsgemeinschaft Ökologischer Forschungsinstitute e.V (AGÖF), sowie Messwerte (95. Perzentile) aus Schulräumen in Deutschland hinzugefügt. Obwohl beim vorliegenden Versuchsaufbau der Verdünnungseffekt, der in einem normalen Raum stattfinden würde, fehlt, ist doch eine gewisse Einschätzung der VOC-Werte möglich, mit denen ein potentieller Anwender eines 3D-Druckers exponiert sein könnte. Der Druckvorgang für ein größeres Projekt kann mitunter über 10 h andauern, was erhöhte VOC-Konzentrationen zur Folge haben kann.

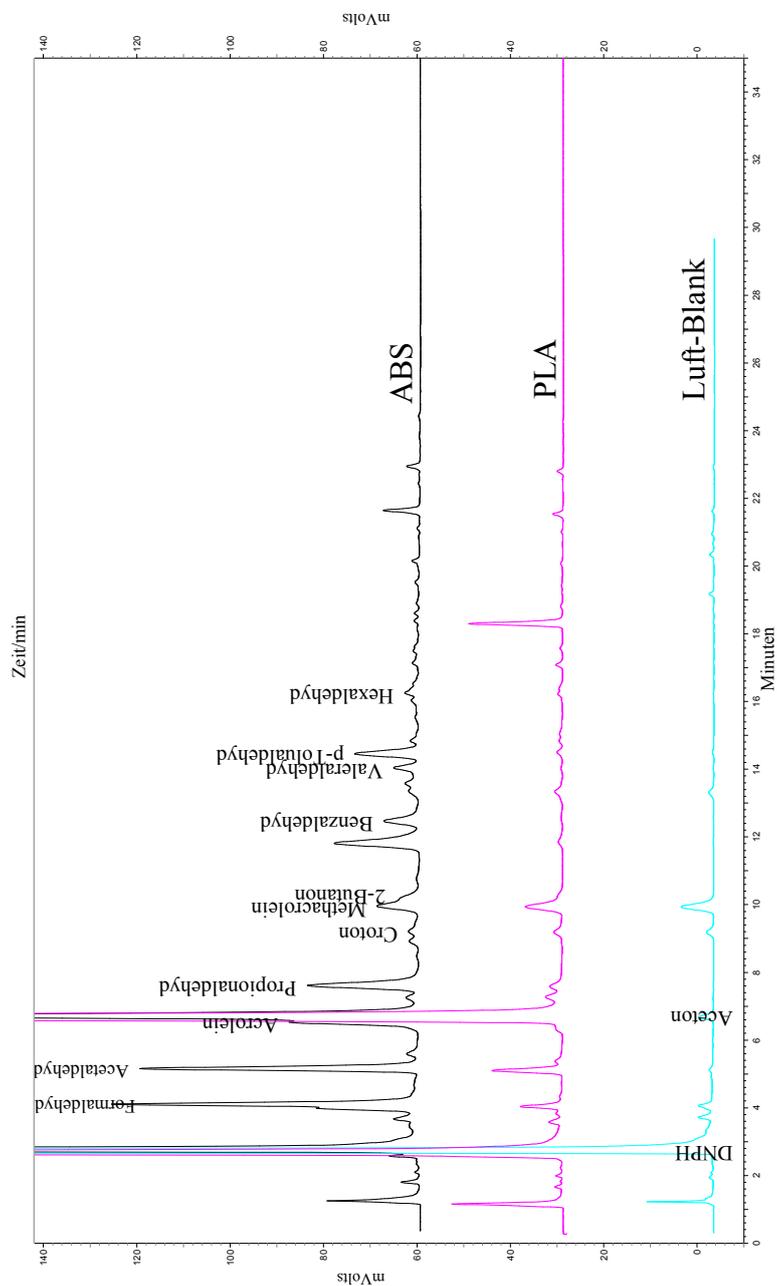


Abbildung 3.19.: Chromatogramm der HPLC-Analyse der Luftproben von erhitztem ABS, PLA und Umgebungsluft. Der vorhandene DNP-Peak in allen Proben beweist, dass die Kartuschen noch ausreichend DNP für eine Reaktion der Analyten enthielten. Der nicht identifizierbare Peak bei PLA scheint auf ein Polylactid zurückzuführen zu sein. Geringe Mengen an Aceton im Luftblank der Umgebungsluft in einem Labor sind nicht unerwartet.

Substanz	Konzentration [ $\mu\text{g m}^{-3}$ ]		AGÖF [130] Orientierungswert [ $\mu\text{g m}^{-3}$ ]	Schulluft [131] [ $\mu\text{g m}^{-3}$ ]	RW I (Vorsorge) [ $\mu\text{g m}^{-3}$ ]	UBA [61]
	ABS schwarz	PLA schwarz				
Acetaldehyd	310	60	54	17,1		100
Aceton	1120	3280	161	195		
Acrolein	160		**			
2-Butanon		120	33	13,0		
Formaldehyde	270	10	30*	31,0		100

Tabelle 3.14.: Ergebnisse der Aldehyd-Analysen via HPLC. Entsprechende Hintergrundwerte wurden abgezogen. Zusätzlich sind Orientierungswerte der Arbeitsgemeinschaft Ökologischer Forschungsinstitute e.V (AGÖF) angegeben, die einordnen, ab welchem Wert eine Substanz in der Innenraumluft statistisch auffällig oder aufgrund toxikologischer Erkenntnisse als risikoreich zu bewerten ist. Des weiteren sind Messwerte (95. Perzentile) aus Schulräumen in Deutschland (Winter 2004-2005) als Vergleichswerte hinzugefügt. Richtwerte I (Vorsorgewerte) des Ausschusses für Innenraumrichtwerte des Umweltbundesamtes sind nur für zwei Substanzen verfügbar. \* Richtwert der Weltgesundheitsorganisation (WHO)[132]: maximale Konzentration von  $100 \mu\text{g m}^{-3}$  im Zeitraum von 30 min. \*\* Nur ein Auffälligkeitwert von  $\leq 5 \mu\text{g m}^{-3}$  ist verfügbar.[130]

## 4. Diskussion

Die vorgestellte Studie untersuchte biochemische sowie psychologische Reaktionen bei einer kontrollierten Expositionsstudie von gesunden Probanden gegenüber Emissionen aus einem 3D-Drucker für den Privatgebrauch. Jeder Proband wurde einmal gegenüber einem gering UFP-emittierenden (Partikelanzahlkonzentration  $< 5 \cdot 10^3 \text{ cm}^{-3}$ , PLA) und einem stark emittierenden (Partikelanzahlkonzentration  $> 10^5 \text{ cm}^{-3}$ , ABS) Material exponiert. Trotz des großen Unterschieds in der Partikelemission von zwei Größenordnungen konnten keine oder nur sehr geringe Effekte beobachtet werden.

Keinerlei Effekte konnten für die spirometrisch gemessene Lungenfunktion detektiert werden. Die beobachteten Änderungen der Zytokinwerte im Nasensekret traten parallel für beide Expositionen auf und waren vermutlich auf Irritationen der Nasenschleimhaut durch die Probenahme zurückzuführen. Dennoch zeigten nicht alle Zytokine den gleichen relativen Anstieg, und es konnte eine erhöhte Antwort von IL-6 beobachtet werden.

8 – *iso* –  $PGF_{2\alpha}$  im Urin, ein möglicher Marker für oxidativen Stress, zeigte ebenfalls zeitliche Änderungen, die unter dem Einfluss der Kreatininkonzentration standen. Des Weiteren zeigten die FeNO-Werte zeitliche Änderungen für beide Expositionen, wobei ein signifikanter, wenn auch kleiner, Unterschied zwischen den FeNO-Konzentrationen 2-3 Stunden nach den Expositionen zu ABS und PLA sichtbar wurde. Dieser Unterschied entstand weitgehend durch einen Abfall des FeNO-Levels nach der Exposition mit PLA.

Beide Expositionen wurden von den Probanden unterschiedlich wahrgenommen, was durch Antworten im Fragebogen, vor allem durch ein signifikant niedrigeres Wohlbefinden und eine signifikant höhere Belästigung durch den Geruch während der ABS-Exposition, widerspiegelt wurde.

Insgesamt wiesen die Ergebnisse dieser kontrollierten einstündigen Expositionsstudie gegenüber 3D-Drucker-Emissionen auf keine klinisch relevanten akuten Entzündungsprozesse durch ABS- oder PLA-Gebrauch hin. Die beobachteten Änderungen bei der FeNO-Messung sind schwierig zu interpretieren, es könnte dennoch lohnenswert sein, diese weiter zu untersuchen, da sie auf subtile biologische Änderungen durch die Materialien hinweisen könnten.

## 4.1. Entzündungsmarker im Nasensekret

Zytokine im Nasensekret als Entzündungsmarker bei Partikelexposition wurden bereits in einer Studie dieses Instituts zu Laserdruckeremissionen gemessen.[133, 5] Die aktuellen Ergebnisse stimmen mit den damaligen insofern überein, als dass keine signifikanten Änderungen zwischen dem stark und dem schwach UFP-emittierendem Material gefunden werden konnten.

In dieser Studie wurden parallele Anstiege für beide Materialien (ABS und PLA) beobachtet. Dies lässt auf eine Reaktion auf die Probenahme schließen, bei der wahrscheinlich die Watte zu einer Irritation der Nasenschleimhaut führte. Diese Irritation bedingte allerdings eine inhomogene Antwort der verschiedenen Zytokine. Im Vergleich zu TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  und IFN- $\gamma$  war der Anstieg von IL-6 wesentlich größer. Methodische Einflussfaktoren, wie die Probenahme, sind bei Vergleichen von *vor* zu *nach* einer Exposition in beschränkten Zeitabschnitten unumgänglich, und es kann nicht ausgeschlossen werden, dass diese eine differenzielle Reaktion auf die Materialien verdecken. Tatsächlich scheinen die Unterschiede der Differenzen nach gegenüber vor Exposition von TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  und IFN- $\gamma$  (wie auch für ECP, siehe unten) für die Exposition mit ABS geringfügig größer zu sein, wenn auch nicht signifikant. Dies war allerdings nicht der Fall für IL-6, was auf einen sogenannten „ceiling effect“ hindeuten könnte, d.h. die stärkere Antwort von IL-6 versteckte einen möglichen relativen Unterschied zwischen den Materialien.

Abgesehen von diesen Tendenzen sollte darauf hingewiesen werden, dass alle beobachteten Änderungen und Unterschiede sehr klein ausfielen. Deshalb sollten diese eher nicht als Zeichen eines klinisch relevanten Effektes auf die Nasenschleimhaut in Erwägung gezogen werden, selbst für das relativ hohe Expositionslevel von ABS. In dieser Studie liegen keine Informationen über Konzentrationen von Entzündungszellen (z.B. Lymphozyten, Neutrophile, Plasmazellen [134]) vor, welche die Änderungen der Zytokinwerte hervorgerufen haben könnten. Für die Entnahme solcher Zellen wäre eine Nasenlavage notwendig gewesen [135], die im Vergleich zu den hier benutzten Watteröllchen, einen noch größeren Effekt auf anschließende Messungen gehabt hätte.

Neben Neutrophilen spielen Makrophagen eine wichtige Rolle bei Entzündungsreaktionen. Während der Phagozytose von Nanopartikeln setzen Makrophagen Zytokine frei, die zur Bestimmung des Entzündungspotentials des Reizes dienen können.[136] In einem ähnlichen Vorgang können Eosinophile (eosinophile Granulozyten) Granula freisetzen, die Substanzen wie das ECP enthalten, die weitere Reaktionen der Nasenschleimhaut auslösen können.[137] Nachdem die Anzahl von Eosinophilen und die ECP-Konzentration

sehr gut korrelieren, wird ECP oft als Marker aktivierter eosinophiler Granulozyten und der Eosinophilie des Gewebes eingesetzt.[104] Die ECP-Konzentration konnte in 17 Probanden bestimmt werden, bei denen nach der Analyse der Zytokine für alle vier Messzeitpunkte (vor und nach je Material) genug Nasensekret übrig war. Ein kleiner, nicht signifikanter Anstieg nach beiden Expositionen, ohne einen Unterschied zwischen den Materialien, konnte beobachtet werden. Diese Ergebnisse stimmen mit den Analysen des ECP im Serum bei Expositionen gegenüber Laserdruckeremissionen überein.[5]

## 4.2. Spirometrie

Die Lungenfunktion via Spirometrie wurde in die Gruppe von Messparametern aufgenommen, um einen vergleichbaren Status der Probanden an jedem Expositionstag sicherzustellen. Es wurden keinerlei Veränderungen beobachtet. Dies zeigt, dass eventuelle Irritationen von 3D-Drucker-Emissionen zu gering waren, um einen messbaren Effekt hervorzurufen. Akute Effekte eingeatmeter Reizstoffe auf die Lungenfunktion im Konzentrationsbereich von wenigen ppm können z.B. bei Toluol-2,4-diisocyanat beobachtet werden[138], welches jedoch ein viel stärkerer Reizstoff als 3D-Drucker-Emissionen zu sein scheint.

## 4.3. Exhaliertes Stickstoffmonoxid (FeNO)

Eosinophilie ist häufig mit erhöhten Stickstoffmonoxidwerten verbunden, weshalb ECP-Konzentrationen (hier im Nasensekret) mit NO-Werten (hier in der Ausatemluft) verglichen werden können, obwohl ihre Quelle in verschiedenen Kompartimenten der Atemwege liegt. Für diese Analyse wurden ECP- und FeNO-Werte der gleichen Zeitpunkte (*vor* und *2-3 h nach* Ende der Exposition) gegenübergestellt. Tatsächlich wurde eine signifikante Korrelation von ECP und FeNO zwischen den Werten aller Probanden ermittelt (siehe Kapitel 3.3.3 und Abbildung 3.12), welche die Zuverlässigkeit beider Parameter unterstreicht. Zum Zeitpunkt *direkt nach* der Exposition liegen keine ECP-Daten für einen Vergleich mit FeNO vor, dennoch gibt es keinen Grund anzunehmen, dass die FeNO-Daten zu diesem Zeitpunkt weniger zuverlässig wären. Es ist bemerkenswert, dass selbst bei nur 17 Probanden, die als Gesunde im unteren Bereich der ECP- und FeNO-Werte lagen, eine solche Korrelation zwischen Parametern aus verschiedenen Bereichen des Körpers zu finden war. Dies lässt auf eine gute Reproduzierbarkeit der Messungen schließen.

Während für ECP kein Unterschied zwischen den Expositionen sichtbar war, konnte beim FeNO ein statistisch signifikanter Unterschied im zeitlichen Verlauf nach der ABS-Exposition im Vergleich zur Exposition mit PLA beobachtet werden. Für beide Materialien war ein leichter Anstieg der Werte direkt nach der Exposition zu sehen. Jedoch waren die FeNO-Werte 2-3 h nach der PLA-Exposition niedriger im Vergleich zu denen nach ABS-Exposition und den Ausgangswerten vor den Expositionen. Folglich gab es einen relativen Anstieg von FeNO nach der ABS-Exposition, oder, anders ausgedrückt, einen relativen Abfall nach der Exposition mit PLA.

Diese Effekte lassen sich nicht ohne weiteres erklären, da der Einfluss mehrerer Faktoren eine Rolle spielen könnte. Änderungen des FeNO-Levels können Verschiebungen in der biochemischen Produktion oder in deren Ausschüttung als Ursache haben. Ferner können Reaktionen mit anderen Verbindungen, insbesondere das Abfangen durch Oxidantien, eine Verminderung des FeNO-Levels bewirken. Eine Vielzahl von Substanzen kann als Oxidantien fungieren. Es ist z.B. bekannt, dass das Rauchen von Zigaretten mit einer Abnahme der FeNO-Werte verknüpft ist.[139] Marini et al. 2014 beobachteten abfallende FeNO-Level nicht nur nach der Inhalation von Zigarettenrauch, sondern auch beim Rauchen von elektronischen Zigaretten (E-Zigaretten), von deren Rauch bekannt ist, dass er UFP und VOCs enthält.[140] Sowohl das Abfangen durch Oxidantien als auch ein Herabregeln der NO-Produktion können eine wesentliche Rolle bei diesen Ergebnissen gespielt haben. Im Gegensatz dazu haben Zhang et al. 2016 einen positiven Zusammenhang zwischen FeNO und der Belastung mit Luftschadstoffen, z.B. Ultrafeinstaub, gefunden[141], was auf eine Hochregulation hindeuten könnte. Ein weiterer Faktor kann eine Änderung in der Diffusionsbarriere von NO in die Atemwegen sein, was in Übereinstimmung mit einer Reduktion von FeNO nach Inhalation von hypertoner Kochsalzlösung stünde.[142, 110]

Es ist nicht bekannt, welche Faktoren während der Exposition mit dem low-Emitter PLA eine solche Veränderung auslösen könnten. Zwar konnten Unterschiede in der VOC-Emission während des Druckes mit ABS und PLA festgestellt werden, die in Übereinstimmung mit den Daten in der Literatur stehen[11, 13], dennoch ist ein Effekt eher unwahrscheinlich, da sowohl die Partikel- als auch die VOC-Emission beim Druck mit PLA sehr gering war. Umgekehrt ist es ebenso unwahrscheinlich, dass zirkadiane Änderungen eine merkliche Wirkung während einer Zeitspanne von 4–5 h hatten. Des Weiteren wurden die FeNO Messungen stets vor denen der Spirometrie vorgenommen, um eventuelle Effekte der forcierten Atemmanöver auf die FeNO-Messung[114] zu vermeiden. Dennoch wurden die FeNO-Messungen an zwei Zeitpunkten nach der Nasensekretentnahme durchgeführt. Indirekte Effekte durch die Sekretentnahme auf FeNO sind bis jetzt nicht bekannt. Des-

halb können die unterschiedlichen Reaktionen von FeNO zwischen den Expositionen mit ABS bzw. PLA zum jetzigen Zeitpunkt nicht im Detail geklärt werden.

#### 4.4. Entzündungsmarker im Urin

Da oxidativer Stress, von Luftschadstoffen ausgelöst, als ein Faktor für gesundheitliche Effekte angesehen wird, wurde die Konzentration des Markers  $8 - iso - PGF_{2\alpha}$  vor und nach den Expositionen im Urin bestimmt.

Es wurden keine signifikanten Unterschieden zwischen den zeitlichen Änderungen der  $8 - iso - PGF_{2\alpha}$ -Konzentrationen, die für die ABS- und PLA-Expositionen beobachtet wurden, gefunden. Die wiederholte Probenahme innerhalb einiger Stunden hatte eine Veränderung der Urinzusammensetzung zur Folge, was durch die unterschiedlichen Kreatininkonzentrationen gekennzeichnet war. Eine Normierung der Werte auf Kreatinin deutete ebenfalls auf keine Unterschiede zwischen den Expositionen hin. Die Normierung bewirkte eine Umkehrung des zeitlichen Verlaufs von  $8 - iso - PGF_{2\alpha}$  im Vergleich zu den Werten ohne Normierung auf Kreatinin. Die statistische Analyse erfolgte mit beiden Metriken ( $\text{ng L}^{-1}$  und  $\text{ng/g Kreatinin}$ ), dennoch waren keine Unterschiede zwischen den Expositionen zu detektieren.

Es könnte ein zeitversetzter Effekt zwischen Exposition und potentielle Veränderungen im Urin eine Rolle spielen. Deshalb sollten weiterführende Studien eine verlängerte Probenahme bis in den nächsten Tag in Betracht ziehen, da die Ausscheidung von Isoprostanen verlangsamt ablaufen könnte. Überdies könnten im Urin Metaboliten von Reizstoffen untersucht werden, um deren mögliche Aufnahme zu untersuchen. Zu diesen potentiell relevanten Substanzen, die beim 3D-Druck emittiert werden und durch ihre Metaboliten bestimmt werden könnten, gehören Styrol, Toluol, Benzol und Ethylbenzol.[143, 144, 145]

##### Vergleich mit anderen Studien

Isoprostan  $8 - iso - PGF_{2\alpha}$  wird auch als Marker für oxidativen Stress durch Zigarettenrauch verwendet. Beim Vergleich mit unseren Ergebnissen ist interessant, mit welcher Methode die Bestimmung im Urin erfolgte und ob die Konzentrationen der Nichtraucher bzw. die Werte vor der Exposition vergleichbar sind. Die Gruppe um Pilz et al. 2000[146] untersuchte die Veränderung des  $8 - iso - PGF_{2\alpha}$ -Levels bei Rauchern während einer Abstinenzphase. Analysiert wurden aufgereinigte Urinproben per ELISA. Aus der Ergebnisgrafik für Raucher ohne weitere Risikofaktoren ist herauszulesen, dass erhöhte  $8 - iso - PGF_{2\alpha}$ -Konzentrationen (ca.  $585 \text{ pg/mg krea} = 585 \text{ ng/g krea}$ ) während einer

zweiwöchigen Rauchpause auf ca. 325 ng/g krea absanken. Als Normalwerte der gesunden Kontrollgruppe wird  $227 \pm 41$  ng/g krea (N=14) angegeben, was mit den Mittelwerten der Messungen vor den Expositionen in dieser Studie (Voruntersuchung, vor ABS, vor PLA) mit  $313 \pm 60$  ng/g krea (N=26) gut übereinstimmt. Eine Studie aus demselben Jahr von Obata et al. analysierte 8-iso-PGF<sub>2α</sub> im Urin von Nichtrauchern, Rauchern und Ex-Rauchern per Gaschromatografie (GC-MS) und ermittelte einen Wert von  $424.0 \pm 70.37$  pg/mg krea (Werte aus Abbildung 3[147]) für Nichtraucher. Helmersson et al. verglichen 2005 mehrere Marker für Schäden durch Rauchen und beschrieben die Kontrollgruppe der Nichtraucher mit 167 pmol/mmol krea, was einem Wert von 523 ng/g krea entspricht.[148] Ebenfalls dem Vergleich mehrerer Biomarker widmeten sich Seet et al. 2011.[129] und analysierten unter anderem 8-iso-PGF<sub>2α</sub> im Urin, ebenfalls per GC-MS. Für Nichtraucher wurde ein Wert von  $\leq 1$  ng/mg krea = 1000 ng/g krea und somit ein Faktor 10 über den anderen Werten. Bei dieser Studie wurde bei Rauchern eine Stunde nach dem Rauchen einer Zigarette ein signifikanter Anstieg von 8-iso-PGF<sub>2α</sub> im Urin detektiert.

## 4.5. Fragebögen

Bei keinem der selbst beobachteten Symptomen des Fragebogens war ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Expositionen zu finden. Daraus lässt schließen, dass trotz der stark unterschiedlichen Expositionslevel in UFP und VOC zwischen den Materialien die Gesamtbelastung zu gering war, um differentielle Effekte in akuten Symptomen zu beobachten. Ob Probanden mit Hyperreaktivität der Atemwege, insbesondere Asthmatiker, eine andere Einschätzung geliefert hätten, ist unklar. Dennoch sollte hier genannt werden, dass in einer ähnlichen, vorangegangenen Studie mit Laserdruckeremissionen keine unterschiedlichen Effekte in Bezug auf Asthmatiker oder Probanden mit unspezifischer Hyperreaktivität der Atemwege beobachtet werden konnten.[133, 5]

Im Gegensatz zu den speziellen Symptomen unterschieden sich die Antworten bezüglich der selbst beobachteten *Geruchsbelästigung*, sowie des *allgemeinen Wohlbefindens* zwischen der ABS- und PLA-Exposition signifikant. Die Einschätzung, dass der Druck mit ABS als störend empfunden wird, deckt sich mit dem allgemeinen Eindruck der meisten Anwender.

Aus dem Fragebogen zur chemischen und allgemeinen Umweltsensitivität (CAUS) wurden den Probanden acht Fragen zur *chemischen Geruchssensitivität* bei der Voruntersuchung gestellt, was zur Charakterisierung der Probandengruppe vor den Expositionen

diente. Die meisten Probanden schätzen sich im unteren Bereich der Skala ein. Wurden die beiden Probanden, die die höchste Einschätzung ankreuzten, von der statistischen Analyse ausgeschlossen, wurden keine qualitativ unterschiedlichen Ergebnisse aller Parameter errechnet, weshalb sie in der allgemeinen Analyse beibehalten wurden. Die niedrigen Ergebnisse des CAUS-Fragebogens machen deutlich, dass die Studienteilnehmer keine überdurchschnittlich hohe chemische Sensitivität zeigten.

## 4.6. Expositionen

Die Probanden wurden so platziert, dass sich der Kopf in Nähe des Druckkopfes des Druckers befand. Diese Position sollte einerseits das Expositionslevel maximieren, andererseits spiegelte sie eine realistische Situation wider, da erfahrungsgemäß viele Anwender den Druckvorgang und -kopf ständig überwachen, um sofort eingreifen zu können, falls ein Problem auftreten sollte. Deshalb halten sich viele Anwender zumindest sehr nahe am 3D-Drucker auf. In einem Reinraum ohne Beeinflussung von Personen wurden sogar einige Meter vom Drucker entfernt noch höhere UFP-Konzentrationen als direkt am Drucker beschrieben.[63]

Somit stellt das Expositionsszenario dieser Studie eine realistische Exposition dar, zumindest was den Druck kleinerer Objekte betrifft, die innerhalb einer Stunde erzeugt werden können. Es könnte interessant sein, potentielle Effekte längerer Expositionen zu studieren, wie beim Druck größerer und komplexerer Strukturen, besonders im Hinblick auf den zeitlichen Verlauf der FeNO-Werte. Bei verlängerten, mehrstündigen Expositionen könnten die Probenahmen von Nasensekret und Urin möglicherweise ohne signifikante Folgewirkungen („carry-over“ Effekt) durchgeführt werden. Unter Umständen kann es eine technische Herausforderung sein, konstant ähnlich hohe UFP-Emissionen wie in dieser Studie ( $> 10^5 \text{ cm}^{-3}$  für ABS) über einen längeren Zeitraum zu halten. Solange aber realistische Szenarien das Ziel sind, müsste ein Monitoring von UFP-Konzentrationen in Kopfnähe des Probanden ausreichen, um die Gesamt- und Spitzenbelastung an der Probandenposition abschätzen zu können.

In separaten Laborversuchen wurden die Emissionen von erhitztem ABS- und PLA-Material untersucht und die Freisetzung mehrerer VOCs bestätigt, die in der Literatur in 3D-Drucker-Emissionen beschrieben wurden.[8, 7, 9, 11, 13] Darunter waren Substanzen mit hohem Irritationspotential wie Styrol, Ethylbenzol, Acrolein und Formaldehyd (vgl. Tabelle 3.14 und Abbildungen 3.18 und 3.17). Es war nicht möglich, diese VOCs in der

Expositionskammer der Studie zu quantifizieren, da die Verdünnung im Raum zu groß war. Stattdessen wurden die Materialien in abgeschlossenen HEADSPACE-Gläschen auf ihre entsprechende Drucktemperatur erhitzt, die auch beim normalen Drucken mit dem 3D-Drucker erreicht wurde.

Es scheint besorgniserregend zu sein, dass solche Substanzen in Emissionen aus Filamenten gefunden wurden, die für den häuslichen Gebrauch verkauft werden. Solange noch keine verbindlichen Regularien herrschen, sollten zumindest Additive und vor allem mögliche emittierte VOCs vom Hersteller angegeben werden.

## 4.7. Mögliche gesundheitliche Konsequenzen

Wie in vorangegangenen Untersuchungen und in dieser Studie gezeigt wurde, können von 3D-Druckern für den Privatanwender eine hohe UFP-Konzentration und erhebliche Mengen VOCs emittiert werden. Während einer kurzzeitigen Exposition von 1 h zeigten sich allerdings auch nach dem „high-Emitter“ Material ABS keine klinisch relevanten Gesundheitseffekte bei gesunden Probanden. Es kann jedoch keine Aussage darüber getroffen werden, wie vorgeschädigte und sensiblere Personen, beispielsweise Asthmatiker oder Kinder, auf die Emissionen reagieren können.

Die Depositionshöhe ist abhängig von Gewicht und Atemvolumen des Menschen, und insbesondere die tracheobronchiale Deposition ist invers proportional zum Alter. Dies kann in einer ca. 3 mal so großen deponierten Dosis für Kinder (unter 8 Jahren) als für Erwachsene resultieren.[149]. Angesichts dieser möglichen erhöhten Dosis für kindliche Lungen sollte das Vorsorgeprinzip erste Priorität haben, auch wenn in dieser Studie keine unmittelbar relevanten klinischen Effekte bei gesunden Erwachsenen gemessen wurden.

Weitere Studien sind unerlässlich, um eine fundierte Empfehlung bezüglich 3D-Drucker-Emissionen geben zu können. Der Fokus sollte dabei vermutlich auf biochemischen Messparametern liegen, die mögliche allergische Zusammenhänge aufdecken könnten. Eine längere und höhere Exposition könnte außerdem Hinweise im Hinblick auf Langzeiteffekte geben.

## 4.8. Stärken & Limitationen der Studie

Die Stärke dieser Studie ist ihr Design als kontrollierte humane Expositionsstudie, die zwei weit verbreitete 3D-Druckmaterialien miteinander vergleicht, welche sich in ihrer Emission stark unterscheiden. Des Weiteren wurde eine Vielzahl von Messungen erhoben, darunter funktionelle Parameter, Biomarker und Antworten aus Fragebögen, für die bereits ausgiebige Erfahrung vorhanden war. Das Expositionsszenario stellte eine einstündige Drucksituation dar, typisch für die Produktion eines kleinen Objektes, unter der Überwachung des Anwenders. Die Stichprobengröße von 26 Probanden war ähnlich derer von anderen Expositionsstudien, in denen signifikante Effekte beobachtet werden konnten. Diese Stichprobenzahl reichte aus, um kleine Unterschiede im zeitlichen Verlauf der FeNO-Werte zu detektieren und die unterschiedliche Wahrnehmung des Geruchs durch die Probanden festzustellen.

Alle Probanden waren Gesunde, deren Verfassung keinen Grund für erhöhte Schwankungen der Werte lieferte. Diese Auswahl der Probanden führt allerdings auch zu einer der Einschränkungen dieser Studie, denn es kann keine Aussage über mögliche Reaktionen von Menschen gemacht werden, die anhand ihrer Atemwegserkrankungen, insbesondere Asthma, möglicherweise anfälliger reagiert hätten. Diese Studie, als erste humane Expositionsstudie mit 3D-Druckern, war auf eine Kurzzeitexposition ohne Schutzmaßnahmen beschränkt, die dennoch einen Großteil der privaten 3D-Druck Anwendungen widerspiegeln dürfte. Außerdem waren die Messungen auf akute Effekte nach der Exposition beschränkt und beinhalteten keine längeren Nachuntersuchungen („follow-up“).

Deshalb sollten verlängerte oder wiederholte Expositionen mit einer längeren follow-up-Periode das Ziel weiterer Studien sein, die sicherlich ein noch komplexeres Design erfordern. Solche Studien müssten ebenfalls mit dem Problem eines carry-over Effektes (Übertragungseffekte) umgehen, der sich selbst aus nicht oder wenig invasiven Messmethoden ergibt, wie z.B. Urinproben oder Nasensekretentnahme per Wattepad. Für aussagekräftige Methoden wie Sputumuntersuchungen, bronchoalveoläre Lavage oder bronchiale Provokationstests trifft dies noch stärker zu. Beim Abwägen zwischen Durchführbarkeit und Aussagekraft kann man sicher von den hier gezeigten Daten profitieren, die auf einen differentiellen Effekt hinweisen und mit akzeptablen Methoden, wie z.B. FeNO, gemessen wurden.



## 5. Fazit & Ausblick

Es kann davon ausgegangen werden, dass die additive Fertigung per 3D-Druck zukünftig, sowohl im professionellen als auch im privaten Bereich, weiterhin stark zunehmen wird. Die Emission von ultrafeinen Partikeln und VOCs variiert stark, kann dennoch hohe Konzentrationen erreichen sowie Reizstoffe enthalten, und signalisiert damit Handlungsbedarf bezüglich der Feststellung möglicher gesundheitlicher Effekte.

Innerhalb eines experimentellen kurzzeitigen Emissionsszenarios, wie es beim Druck eines kleinen Objektes erreicht wird, wurden bei gesunden Probanden keine akuten Effekte gefunden, die als klinisch signifikant bewertet werden können. Dennoch wurde ein kleiner differentieller Effekt in der Stickstoffmonoxidkonzentration in der Ausatemluft (FeNO) festgestellt, der es wert sein könnte, genauer untersucht zu werden. Unabhängig davon geht aus der Geruchsbelästigung *per se*, insbesondere beim Druck mit ABS, hervor, dass eine ausreichende Belüftung während und nach dem 3D-Druck in Privaträumen als Vorsorgemaßnahme sinnvoll erscheint. Dies ist besonders bei Langzeitexpositionen im Arbeitsplatzbereich oder bei Exposition von Kindern und Jugendlichen (z.B. in Schulen) gerechtfertigt.

Als mögliche Maßnahmen kommen Absaugvorrichtungen, Filterung der 3D-Drucker-Emissionen, sowie die Verwendung von emissionsärmeren Materialien in Frage. Da beispielsweise Druckobjekte, die im Rahmen von Schulprojekten gedruckt werden, in der Regel auf die höhere Thermostabilität von ABS verzichten können, würde eine Substitution von ABS durch ein passendes, emissionsärmeres PLA-Material hier schon enorm viel (Partikel-) Emission einsparen. Für manche halboffenen Druckermodelle werden bereits von Drittherstellern spezielle Aufsätze mit integrierten HEPA-Filtern angeboten, um „Geruch und Feinstaub zu minimieren“ [150], was zeigt, dass bei den privaten Anwendern von 3D-Druckern sowie bei den Herstellern ein Bewusstsein für eventuelle Gefahren und dementsprechende Maßnahmen entsteht. Dies ist notwendig, um Anwender und passive Betroffene vor noch ungeahnten Risiken zu bewahren.



## 6. Zusammenfassung

Da die Benutzung von der 3D-Druck-Technologie auch im privaten und im Bereich von Kleinbetrieben stetig zunimmt, ist eine Beurteilung von möglichen gesundheitlichen Risiken notwendig. Das am weitesten verbreitete Schichtdruckverfahren für den Privat-anwender arbeitet mit schmelzbaren Plastikfäden. Erst innerhalb der letzten fünf Jahre wurden Studien zur UFP- (Ultrafeinstaub) und VOC-Emission (flüchtige organische Verbindungen) dieser 3D-Drucker durchgeführt. Dabei zeigten sich große Unterschiede in den Emissionen, je nachdem mit welchem Kunststoff gedruckt wurde. Die zwei am häufigsten verwendeten Kunststoffe Acrylnitril-Butadien-Styrol (ABS) und Polylactid (PLA) unterscheiden sich enorm in ihrer UFP- und VOC-Emission. Anhand dieser Vorkenntnisse wurde im Rahmen dieser Arbeit eine Studie entwickelt und durchgeführt, bei der 26 gesunde Freiwillige an zwei Expositionstagen gegen Emissionen beim 3D-Druck beider Kunststoffe exponiert werden. Vor, direkt nach und 2-3 h nach den Expositionen wurden verschiedene biochemische Parameter gemessen, zusätzlich erfolgten Messungen per Spirometrie und die Erhebung eines detaillierten Symptomfragebogens. Außerdem wurden die Emissionen des handelsüblichen 3D-Druckers und der beiden Kunststoffe umfangreich charakterisiert und untersucht.

Im Rahmen der Studie erfolgten vor und nach der einstündigen Exposition Untersuchungen zur Lungenfunktion via Spirometrie, Urinprobennahme, Messungen des exhalieren Kohlenstoffmonoxids (eCO) und exhalieren Stickstoffmonoxids (FeNO), Entnahme von Nasensekret, sowie eine Befragung über das subjektive Befinden. Die Urinproben wurden auf den Biomarker für oxidativen Stress 8-iso Prostaglandin  $F_{2\alpha}$  (*8-iso-PGF<sub>2\alpha</sub>*) analysiert. Im Nasensekret wurden vier Zytokine (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  und IFN- $\gamma$ ) sowie das eosinophile kationische Protein (ECP) nachgewiesen.

Es wurden keine signifikanten Effekte beim Biomarker im Urin und bei den Spirometriemessungen beobachtet. Die Zytokine im Nasensekret stiegen nach beiden Expositionen parallel an, wobei IL-6 die stärkste Antwort zeigte. Dies lässt auf einen Effekt der wiederholten Probenahme schließen, die anscheinend eine Ausschüttung von IL-6 auslöst. Die ECP-Konzentrationen nahmen ebenfalls nach beiden Expositionen zu. Ein signifikanter

Unterschied zwischen den Materialien konnte nicht gemessen werden.

Die FeNO-Messwerte zeigten einen kleinen, jedoch signifikanten Unterschied zwischen den beiden Materialien 2-3 h nach Ende der Exposition. Hierbei war eine relativ erhöhte Konzentration nach dem Druck mit ABS zu messen. Ein Vergleich mit den ECP-Werten aus dem Nasensekret ergab eine positive Korrelation von FeNO und ECP, was zum einen die Daten bestätigt, zum anderen auf einen möglichen allergierelevanten Effekt der Expositionen hinweist.

Insgesamt konnten in dieser humanen Expositionsstudie keine klinisch relevanten Effekte auf die Gesundheit während eines kurzzeitigen 3D-Druckes beobachtet werden. Da die kleine Änderung in den FeNO-Werten auf einen möglichen allergischen Aspekt hindeutet, scheint es wichtig, bei weiteren Untersuchungen die Exposition von sensibleren Personen, wie z.B. Asthmatikern, einzuschließen. Da der private Gebrauch von 3D-Druckern bislang keinerlei bestimmte Arbeitsschutzmaßnahmen vorsieht, kann nach dem Präventionsprinzip eine ausreichende Belüftung empfohlen werden, sowie eine Substitution von starken UFP-Emittern (wie ABS) durch geringere UFP-Emitter (wie PLA).

## 7. Summary

The use of 3D printers in private households is continuously increasing. Nanoparticle emissions from such devices have been reported, which raises the question whether 3D printers can cause adverse health effects via ultra fine particles (UFP). Previous studies have shown a high difference in emissions between the two most prevalent plastic filaments used with domestic 3D printers ( fused deposition modeling), namely acrylonitrile butadiene styrene (ABS) and polylactic acid (PLA). In the course of this doctoral thesis, 26 healthy adults were exposed to the emissions of a desktop 3D printer for one hour in a single-blind, randomized, cross-over design study, using both filaments. Several biochemical parameters, as well as detailed questionnaires were assessed before, immediately after and 2-3 h after the exposure.

The focus was placed on comparing the responses to the two different materials, the high UFP-emitting ABS versus the low-emitting PLA. The biochemical markers included cytokines (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$ ) and eosinophil cationic protein (ECP) in nasal secretions, nitric oxide in exhaled breath (FeNO), spirometry, as well as 8-isoprostaglandin F<sub>2 $\alpha$</sub>  (8 - *iso* - PGF<sub>2 $\alpha$</sub>  ) in the urine. The parameter urinary 8 - *iso* - PGF<sub>2 $\alpha$</sub>  and spirometric measurements showed no effects after the exposures. There were also no significant differential effect on nasal cytokines and ECP between the exposures. However, all nasal biomarkers showed a parallel increase after exposures, which was strongest for IL-6, indicating an effect of the repeated sampling, though a very sensitive extraction via the “cotton-wool method” was used. Furthermore, a difference (p<0.05) in the time course of FeNO, with higher levels after ABS exposure could be observed. The relatively high correlation between FeNO and ECP levels, both markers being associated with eosinophilia, confirmed the credibility of the data. The results of the questionnaire displayed a lower subjective well-being and a higher perception of odour nuisance for ABS exposure.

These data suggest that one hour of exposure to UFP from a desktop 3D printer had no acute effect on inflammatory markers in nasal secretions and urine. The slight relative increase in FeNO after ABS printing compared to PLA might be due to eosinophilic

inflammation from inhaled UFP particles. This possibility should be investigated in further studies using additional biomarkers and longer observation periods. As this study was conducted with healthy participants, it would be interesting to assess responses of more sensible subjects such as asthmatics or children. Until new insights are available, sufficient ventilation, minimization of exposure and change to low emitting filaments, wherever possible, make sense as preventive measures.

# Literaturverzeichnis

- [1] **Ultimaker B.V.**, “The story of Ultimaker over the years | About Ultimaker”, <https://ultimaker.com/en/about-ultimaker> (Aufgerufen am: 2017-11-03).
- [2] **Bitkom Research**, **2017**, “3D-Druck im Hausgebrauch”, <https://www.bitkom.org/Presse/Anhaenge-an-PIs/2017/03-Maerz/Bitkom-Pressekonferenz-3D-Druck-Verbraucher-01-03-2017.pdf> (Aufgerufen am: 2017-10-23).
- [3] **Mattel GmbH**, **2016**, “Mattel entwickelt ThingMaker und ermöglicht Familien durch den 3D-Drucker für Zuhause selbst Spielzeughersteller zu werden”, <http://news.mattel.de/pressreleases/thingmaker-3d-drucker-1402363> (Aufgerufen am: 2017-10-23).
- [4] **Branwyn G**, **2018**, “Turning Your Kid’s Drawings into 3D Printed Toys”, <https://makezine.com/2018/03/19/turning-kids-drawing-3d-printed-toy/> (Aufgerufen am: 2018-03-26).
- [5] **Karrasch S**, **Simon M**, **Herbig B**, **Langner J**, **Seeger S**, **Kronseder A**, **Peters S**, **Dietrich-Gümperlein G**, **Schierl R**, **Nowak D** und **Jörres R A**, **2017**: “Health effects of laser printer emissions: a controlled exposure study”, in: *Indoor Air*, 27(4): S. 753–765, doi:10.1111/ina.12366, <http://doi.wiley.com/10.1111/ina.12366>.
- [6] **Herbig B**, **Jörres R A**, **Schierl R**, **Simon M**, **Langner J**, **Seeger S**, **Nowak D** und **Karrasch S**, **2017**: “Psychological and cognitive effects of laser printer emissions: a controlled exposure study”, in: *Indoor Air*, 28(1): S. 112–124, doi:doi:10.1111/ina.12429, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28960517>.
- [7] **Afshar-Mohajer N**, **Wu C Y**, **Ladun T**, **Rajon D A** und **Huang Y**, **2015**: “Characterization of particulate matters and total VOC emissions from a binder jetting 3D printer”, in: *Building and Environment*, 93: S. 293–301, doi:10.1016/j.buildenv.2015.07.013.

- [8] **Azimi P, Zhao D, Pouzet C, Crain N E und Stephens B, 2016:** “Emissions of Ultrafine Particles and Volatile Organic Compounds from Commercially Available Desktop Three-Dimensional Printers with Multiple Filaments”, in: *Environmental Science and Technology*, 50(3): S. 1260–1268, doi:10.1021/acs.est.5b04983.
- [9] **Steinle P, 2016:** “Characterization of emissions from a desktop 3D printer and indoor air measurements in office settings”, in: *Journal of Occupational and Environmental Hygiene*, 13(2): S. 121–132, ISSN 1545-9624, doi:10.1080/15459624.2015.1091957, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26550911><http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/15459624.2015.1091957>.
- [10] **Stefaniak A B, LeBouf R F, Yi J, Ham J, Nurkewicz T, Schwegler-Berry D E, Chen B T, Wells J R, Duling M G, Lawrence R B, Martin S B, Johnson A R und Virji M A, 2017:** “Characterization of Chemical Contaminants Generated by a Desktop Fused Deposition Modeling 3-Dimensional Printer”, in: *Journal of Occupational and Environmental Hygiene*, 14(7): S. 540–550, doi:10.1080/15459624.2017.1302589, <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/15459624.2017.1302589>.
- [11] **Kim Y, Yoon C, Ham S, Park J, Kim S, Kwon O und Tsai P J, 2015:** “Emissions of Nanoparticles and Gaseous Material from 3D Printer Operation”, in: *Environmental Science and Technology*, 49(20): S. 12044–12053, doi:10.1021/acs.est.5b02805.
- [12] **Vance M E, Pegues V, Van Montfrans S, Leng W und Marr L C, 2017:** “Aerosol Emissions from Fuse-Deposition Modeling 3D Printers in a Chamber and in Real Indoor Environments”, in: *Environmental Science & Technology*, 51(17): S. 9516–9523, doi:10.1021/acs.est.7b01546, <http://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.est.7b01546>.
- [13] **Wojtyła S, Klama P und Baran T, 2017:** “Is 3D printing safe? Analysis of the thermal treatment of thermoplastics: ABS, PLA, PET, and nylon”, in: *Journal of Occupational and Environmental Hygiene*, 14(6): S. D80–D85, doi:10.1080/15459624.2017.1285489, <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/15459624.2017.1285489?journalCode=uoeh20>.
- [14] **Yi J, LeBouf R F, Duling M G, Nurkewicz T, Chen B T, Schwegler-Berry D, Virji M A und Stefaniak A B, 2016:** “Emission of particulate matter from a desktop three-dimensional (3D) printer”, in: *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 79(11): S. 453–465,

ISSN 1528-7394, doi:10.1080/15287394.2016.1166467, <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/15287394.2016.1166467>.

- [15] **Oskui S M, Diamante G, Liao C, Shi W, Gan J, Schlenk D und Grover W H, 2016:** “Assessing and Reducing the Toxicity of 3D-Printed Parts”, in: *Environmental Science and Technology Letters*, 3(1): S. 1–6, doi:10.1021/acs.estlett.5b00249, <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acs.estlett.5b00249>.
- [16] **Macdonald N P, Zhu F, Hall C J, Reboud J, Crosier P S, Patton E E, Wlodkowic D und Cooper J M, 2016:** “Assessment of biocompatibility of 3D printed photopolymers using zebrafish embryo toxicity assays”, in: *Lab Chip*, 16(2): S. 291–297, doi:10.1039/C5LC01374G, <http://xlink.rsc.org/?DOI=C5LC01374G>.
- [17] **Pirela S V, Martin J, Bello D und Demokritou P, 2017:** “Nanoparticle exposures from nano-enabled toner-based printing equipment and human health: state of science and future research needs”, in: *Critical Reviews in Toxicology*, 47(8): S. 678–704, doi:10.1080/10408444.2017.1318354, <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10408444.2017.1318354>.
- [18] **Stephens B, Azimi P, El Orch Z und Ramos T, 2013:** “Ultrafine particle emissions from desktop 3D printers”, in: *Atmospheric Environment*, 79: S. 334–339, doi:10.1016/j.atmosenv.2013.06.050, <http://dx.doi.org/10.1016/j.atmosenv.2013.06.050>.
- [19] **Wong K V und Hernandez A, 2012:** “A Review of Additive Manufacturing”, in: *ISRN Mechanical Engineering*, 2012: S. 1–10, doi:10.5402/2012/208760, <https://www.hindawi.com/journals/isrn/2012/208760/>.
- [20] **Asbach C, Kaminski H, Dahmann D, Monz C, Neumann V, Plitzko S, Dziurawicz N, Simonow B, Fierz M und Todea A M, 2015:** “Genauigkeit, Vergleichbarkeit und Feldtauglichkeit personengetragener Monitore zur Bestimmung der Exposition gegenüber Nanopartikeln”, in: *Gefahrstoffe - Reinhaltung der Luft*, 75: S. 469–478, [http://www.nanoindex.eu/wp-content/uploads/2014/12/Gefahrstoffe\\_{\\_}11\\_{\\_}2015\\_{\\_}X800-Asbach.pdf](http://www.nanoindex.eu/wp-content/uploads/2014/12/Gefahrstoffe_{_}11_{_}2015_{_}X800-Asbach.pdf).
- [21] **Mattenklott M und Höfert N, 2009:** “Stäube an Arbeitsplätzen und in der Umwelt. Vergleich der Begriffsbestimmungen”, in: *Gefahrstoffe - Reinhaltung der Luft*, 69(4): S. 127–129, [http://www.bg-praevention.de/medien/ifa/de/pub/gr1/pdf/2009\\_{\\_}058.pdf](http://www.bg-praevention.de/medien/ifa/de/pub/gr1/pdf/2009_{_}058.pdf).
- [22] **Oberdörster G, Oberdörster E und Oberdörster J, 2005:** “Nanotoxicology: An Emerging Discipline Evolving from Studies of Ultrafine Particles”, in: *Environ-*

- mental Health Perspectives*, 113(7): S. 823–839, doi:10.1289/ehp.7339, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1257642/pdf/ehp0113-000823.pdf>.
- [23] **Umweltbundesamt**, **2010**: “Prognose der Luftqualität und Abschätzung von Grenzwertüberschreitungen in Deutschland für die Referenzjahre 2010, 2015 und 2020.”, Techn. Ber., [https://www.umweltbundesamt.de/sites/default/files/medien/461/publikationen/texte\\_{\\_}65\\_{\\_}2013\\_{\\_}appelhans\\_{\\_}m12\\_{\\_}komplett\\_{\\_}0.pdf](https://www.umweltbundesamt.de/sites/default/files/medien/461/publikationen/texte_{_}65_{_}2013_{_}appelhans_{_}m12_{_}komplett_{_}0.pdf).
- [24] **Umweltbundesamt**, **2013**: “Emissionen aus offener Verbrennen. Strategien zur Verminderung der Feinstaubbelastung - PAREST”, Techn. Ber., [https://www.umweltbundesamt.de/sites/default/files/medien/461/publikationen/texte\\_{\\_}42\\_{\\_}2013\\_{\\_}appelhans\\_{\\_}e04\\_{\\_}komplett\\_{\\_}0.pdf](https://www.umweltbundesamt.de/sites/default/files/medien/461/publikationen/texte_{_}42_{_}2013_{_}appelhans_{_}e04_{_}komplett_{_}0.pdf).
- [25] **Buzea C**, **Pacheco II** und **Robbie K**, **2007**: “Nanomaterials and nanoparticles: sources and toxicity.”, in: *Biointerphases*, 2(4): S. MR17–71, <https://arxiv.org/ftp/arxiv/papers/0801/0801.3280.pdf>.
- [26] **Bakand S** und **Hayes A**, **2016**: “Toxicological Considerations, Toxicity Assessment, and Risk Management of Inhaled Nanoparticles”, in: *International Journal of Molecular Sciences*, 17: S. 929, doi:10.3390/ijms17060929, <http://www.mdpi.com/1422-0067/17/6/929>.
- [27] **Hofmann W**, **1982**: “Mathematical Model for the postnatal growth of the human lung”, in: *Respiration Physiology*, 49: S. 115–129, [https://ac.els-cdn.com/0034568782901062/1-s2.0-0034568782901062-main.pdf?\\_{\\_}tid=fc5049a3-4e23-4d64-a4d9-652144d062bd{&}acdnat=1522154826\\_{\\_}c07ac13678350806584bcaca4ac706b5](https://ac.els-cdn.com/0034568782901062/1-s2.0-0034568782901062-main.pdf?_{_}tid=fc5049a3-4e23-4d64-a4d9-652144d062bd{&}acdnat=1522154826_{_}c07ac13678350806584bcaca4ac706b5).
- [28] **Behrends J C**, **Bischofberger J**, **Deutzmann R**, **Ehmke H**, **Frings S**, **Grissmer S**, **Hoth M**, **Kurtz A**, **Leipziger J**, **Müller F**, **Pedain C**, **Rettig J**, **Wagner C** und **Wischmeyer E**, **2012**: “8.3 Belüftung der Lunge”, in: “Duale Reihe Physiologie”, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, ISBN 9783131384126, doi:10.1055/b-0034-24778, <http://www.thieme-connect.de/products/ebooks/abstract/10.1055/b-0034-24778>.
- [29] **Silbernagl S** und **Despopoulos A**, **1983**: *dtv-Atlas der Physiologie*, zweite Aufl., Thieme, Stuttgart, ISBN 3135677028.
- [30] **Tsuda A** und **Gehr P** (Hg.), **2014**: *Nanoparticles in the Lung - Environmental Exposure and Drug Delivery*, CRC Press, ISBN 978-1-4398-9279-4.

- [31] **Fernández Tena A** und **Casan Clarà P**, **2012**: “Deposition of Inhaled Particles in the Lungs”, in: *Archivos de Bronconeumología (English Edition)*, 48(7): S. 240–246, doi:10.1016/j.arbr.2012.02.006, <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1579212912000845>.
- [32] **Davies C N**, **1972**: “Breathing of half-micron aerosols II. Interpretation of experimental results”, in: *Journal of Applied Physiology*, 32(3): S. 601, <https://www.physiology.org/doi/pdf/10.1152/jappl.1972.32.5.601>.
- [33] **Geiser M** und **Kreyling W G**, **2010**: “Deposition and biokinetics of inhaled nanoparticles”, in: *Particle and Fibre Toxicology*, 7(2), doi:10.1186/1743-8977-7-2, <http://particleandfibretoxicology.biomedcentral.com/articles/10.1186/1743-8977-7-2>.
- [34] **Davies A** und **Moore C**, **2017**: *Organsysteme verstehen - Atmungssystem: Integrative Grundlagen und Fälle*, erste Aufl., Elsevier GmbH, München, ISBN 3437173057.
- [35] **McClellan R O** und **Henderson R**, **1995**: *Concepts in inhalation toxicology*, Informa healthcare, ISBN 1439805571, [https://books.google.de/books?id=7vJG11xAbx0C&dq=Hofmann+W+\(1982\).+Mathematical+model+for+the+postnatal+growth+of+the+human+lung.+Respir+Physiol+49\(1\):+115-129&hl=de&source=gbs\\_{\\_}navlinks\\_{\\_}s](https://books.google.de/books?id=7vJG11xAbx0C&dq=Hofmann+W+(1982).+Mathematical+model+for+the+postnatal+growth+of+the+human+lung.+Respir+Physiol+49(1):+115-129&hl=de&source=gbs_{_}navlinks_{_}s).
- [36] **Schmidt R F**, **Lang F** und **Heckmann M**, **2011**: *Physiologie des Menschen*, 31. Aufl., Springer-Verlag Berlin, ISBN 3642016510.
- [37] **Muhle H**, **1994**: “Respirationstrakt”, in: **Marquardt H** und **Schäfer S G** (Hg.), “Lehrbuch der Toxikologie”, S. 219–33, BI Wissenschaftsverlag, ISBN 3411163216 / 3-411-16321-6.
- [38] **Liu G**, **Cheresh P** und **Kamp D W**, **2013**: “Molecular Basis of Asbestos-Induced Lung Disease”, in: *Annu Rev Pathol*, 8: S. 161–187, doi:10.1146/annurev-pathol-020712-163942, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3900296/pdf/nihms-537063.pdf>.
- [39] **Greim H**, **Borm P**, **Schins R**, **Dinaldson K**, **Driscoll K**, **Hartwig A**, **Kuempel E**, **Oberdörster G** und **Speit G**, **2001**: “Toxicity of fibers and particles - Report of the workshop held in Munich, October 2000”, in: *Inhalation Toxicology*, 13: S. 737–754, <http://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/08958370118273?needAccess=true&instName=LMU+Munich>.

- [40] **Murphy F A, Schinwald A, Poland C A und Donaldson K, 2012:** “The mechanism of pleural inflammation by long carbon nanotubes: interaction of long fibres with macrophages stimulates them to amplify pro-inflammatory responses in mesothelial cells”, in: *Particle and Fibre Toxicology*, 9(8), doi: 10.1186/1743-8977-9-8, <http://particleandfibretoxicology.biomedcentral.com/articles/10.1186/1743-8977-9-8>.
- [41] **Mizuno K und Kataoka H, 2015:** “Analysis of urinary 8-isoprostane as an oxidative stress biomarker by stable isotope dilution using automated online in-tube solid-phase microextraction coupled with liquid chromatography-tandem mass spectrometry”, in: *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 112: S. 36–42, doi:10.1016/j.jpba.2015.04.020, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpba.2015.04.020>.
- [42] **Dong J und Ma Q, 2016:** “Myofibroblasts and lung fibrosis induced by carbon nanotube exposure.”, in: *Particle and fibre toxicology*, 13(1): S. 60, doi:10.1186/s12989-016-0172-2, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27814727>.
- [43] **Heckel K, Kiefmann R, Dörger M, Stoeckelhuber M und Goetz A E, 2004:** “Colloidal gold particles as a new in vivo marker of early acute lung injury”, in: *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 287: S. 867–878, doi:10.1152/ajplung.00078.2004., <https://pdfs.semanticscholar.org/c90c/736413fd8dcd6a79c2504f118af159dc9bf0.pdf>.
- [44] **Hinghofer-Szalkay H, 2018,** “Physiologie: Respirationssystem und Atemgastrotransport”, <http://physiologie.cc/VIII.5.htm> (Aufgerufen am: 2018-06-18).
- [45] **Rhoades R und Pflanzer R G, 1992:** *Human physiology*, zweite Aufl., Saunders College Pub, ISBN 0030726166.
- [46] **Schmid O und Stoeger T, 2016:** “Surface area is the biologically most effective dose metric for acute nanoparticle toxicity in the lung”, in: *Journal of Aerosol Science*, 99: S. 133–143, doi:10.1016/j.jaerosci.2015.12.006, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaerosci.2015.12.006>.
- [47] **Brown D M, Wilson M R, Macnee W, Stone V und Donaldson K, 2001:** “Size-Dependent Proinflammatory Effects of Ultrafine Polystyrene Particles: A Role for Surface Area and Oxidative Stress in the Enhanced Activity of Ultrafines”, in: *Toxicol Appl Pharmacol*, 175: S. 191–199, doi: 10.1006/taap.2001.9240, <https://ac.els-cdn.com/S0041008X01992403/1->

s2.0-S0041008X01992403-main.pdf?{}\_tid=57c5f75c-c94a-11e7-a0ee-00000aab0f02{&}acdnat=1510670860{ }b3f93a410027e9f4082668113fc83833.

- [48] **Sager T M** und **Castranova V**, **2009**: “Surface area of particle administered versus mass in determining the pulmonary toxicity of ultrafine and fine carbon black: comparison to ultrafine titanium dioxide”, in: *Particle and Fibre Toxicology*, 6, doi:10.1186/1743-8977-6-15, <http://www.particleandfibretoxicology.com/content/6/1/15>.
- [49] **Schmid O**, **Möller W**, **Semmler-Behnke M**, **Ferron G A**, **Karg E**, **Lipka J**, **Schulz H**, **Kreyling W G** und **Stoeger T**, **2009**: “Dosimetry and toxicology of inhaled ultrafine particles.”, in: *Biomarkers*, 14(S1): S. 67–73, doi: 10.1080/13547500902965617, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19604063>.
- [50] **Ligon S C**, **Liska R**, **Stampfl J**, **Gurr M** und **Mülhaupt R**, **2017**: “Polymers for 3D Printing and Customized Additive Manufacturing”, in: *Chemical Reviews*, 117: S. 10212–10290, doi:10.1021/acs.chemrev.7b00074.
- [51] **Florian Horsch**, **2014**: *3D-Druck für alle - Der Do-it-yourself-Guide*, Carl Hanser Verlag, München, ISBN 978-3-446-43698-5, <http://update.hanser-fachbuch.de/2013/12/3d-druck-fuer-wirklich-alle-inklusive-gewinnspiel/>.
- [52] **Max von Übel**, **2017**, “Der große Leitfaden zu 3D-Drucker-Materialien”, <https://all3dp.com/de/1/3d-drucker-material-3d-druck-materialen/> (Aufgerufen am: 2018-03-26).
- [53] **Ragan S**, **2013**: “Plastics for 3D Printing”, in: *MAKE*, S. 22, <http://timelab.org/sites/all/files/MAKE{ }Ultimate{ }Guide{ }to{ }3D{ }Printing.pdf>.
- [54] **Mendes L**, **Kangas A**, **Kukko K**, **Mølgaard B**, **Säämänen A**, **Kanerva T**, **Flores Ituarte I**, **Huhtiniemi M**, **Stockmann-Juvala H**, **Partanen J**, **Hämeri K**, **Eleftheriadis K** und **Viitanen A K**, **2017**: “Characterization of Emissions from a Desktop 3D Printer”, in: *Journal of Industrial Ecology*, 21(S1): S. 94–106, doi:10.1111/jiec.12569, <http://doi.wiley.com/10.1111/jiec.12569>.
- [55] **Rat der europäischen Gemeinschaften**, **1980**, “Richtlinie des Rates über Grenzwerte und Leitwerte der Luftqualität für Schwefeldioxid und Schwebestaub”, <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/DE/TXT/PDF/?uri=CELEX:31980L0779{&}from=DE>.
- [56] **MAK-Kommission**, **2012**, “Grundsätze für Mandat und Arbeitsweise der Ständigen Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitss-

- stoffe”, <http://www.dfg.de/download/pdf/dfg{ }im{ }profil/gremien/senat/arbeitsstoffe/arbeitsauftrag{ }der{ }kommission.pdf>.
- [57] **Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit, 2012:** *Nanomaterialien am Arbeitsplatz - Exposition, gesundheitliche Risiken und Präventionsmaßnahmen*, ISBN 978-3-942018-69-2.
- [58] **Umweltbundesamt, 2008:** “Gesundheitliche Bedeutung von Feinstaub in der Innenraumluft”, in: *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz*, 51: S. 1370–1378, doi:10.1007/s00103-008-0708-1, <https://www.umweltbundesamt.de/sites/default/files/medien/pdfs/feinstaub{ }2008.pdf>.
- [59] **Institut für Arbeitsschutz, 2017,** “GESTIS - International limit values for chemical agents”, <http://www.dguv.de/ifa/gestis/gestis-internationale-grenzwerte-fuer-chemische-substanzen-limit-values-for-chemical-agents/index-2.jsp> (Aufgerufen am: 2018-04-19).
- [60] **Permanent Senate Commission for the Investigation of Health Hazards of Chemical Compounds in the Work Area, 2017,** “List of MAK and BAT Values 2017”, <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/9783527812127>.
- [61] **Umweltbundesamt, 2017,** “Ausschuss für Innenraumrichtwerte”, <https://www.umweltbundesamt.de/themen/gesundheit/kommissionen-arbeitsgruppen/ausschuss-fuer-innenraumrichtwerte-vormals-ad-hoc{#}textpart-1> (Aufgerufen am: 2018-04-19).
- [62] **Stephens B, 2013,** “Could particle emissions from desktop 3D printers reach unhealthy levels?”, <https://www.elsevier.com/connect/could-particle-emissions-from-desktop-3d-printers-reach-unhealthy-levels>.
- [63] **Zhou Y, Kong X, Chen A und Cao S, 2015:** “Investigation of Ultrafine Particle Emissions of Desktop 3D Printers in the Clean Room”, in: *Procedia Engineering*, 121: S. 506–512, doi:10.1016/j.proeng.2015.08.1099, <https://ac.els-cdn.com/S1877705815028271/1-s2.0-S1877705815028271-main.pdf?{ }tid=fca7705e-d041-11e7-b5b7-00000aacb35d{&}acdnat=1511436928{ }e6c20b077d8cf897dc25a2bdbbc0272a1>.
- [64] **Deng Y, Cao S J, Chen A und Guo Y, 2016:** “The impact of manufacturing parameters on submicron particle emissions from a desktop 3D printer in the perspective of emission reduction”, in: *Building and Environment*, 104: S. 311–319, doi:

- 10.1016/j.buildenv.2016.05.021, [https://ac.els-cdn.com/S0360132316301731/1-s2.0-S0360132316301731-main.pdf?{}\\_tid=27a1cf3a-d03c-11e7-8444-00000aab0f6c{&}acdnat=1511434424{&\\_}ac9867b74d143002652bfd5b22fa9166](https://ac.els-cdn.com/S0360132316301731/1-s2.0-S0360132316301731-main.pdf?{}_tid=27a1cf3a-d03c-11e7-8444-00000aab0f6c{&}acdnat=1511434424{&_}ac9867b74d143002652bfd5b22fa9166).
- [65] **Love T S** und **Roy K**, **2016**: “3D printing: what’s the harm?”, in: *Technology and Engineering Teacher*, 76(1): S. 36–37, <https://search.proquest.com/openview/3547541ebc619a41e8ad717fa4659a87/1?pq-origsite=gscholar{&}cbl=34845>.
- [66] **Ryan T** und **Hubbard D**, **2016**: “3-D Printing Hazards”, in: *Professional Safety*, S. 56–62, [http://www.asse.org/assets/1/7/F1Rya{&\\_}0616z.pdf](http://www.asse.org/assets/1/7/F1Rya{&_}0616z.pdf).
- [67] **Mcdonnell B**, **Guzman X J**, **Dolack M**, **Simpson T W** und **Cimbala J M**, **2016**: “3D Printing in the Wild: a preliminary Investigation of Air Quality in College Maker Spaces”, in: “Proceedings of the 26th Annual International Solid Freeform Fabrication Symposium - An Additive Manufacturing Conference”, S. 2456–2469, *Solid Freeform Fabrication*, <http://sffsymposium.engr.utexas.edu/sites/default/files/2016/196-McDonnell.pdf>.
- [68] **Roy K**, **2016**, “The Harmful Particles in 3-D Printers”, <http://nstacomunities.org/blog/2016/12/15/the-harmful-particles-in-3-d-printers/> (Aufgerufen am: 2018-04-05).
- [69] **Herrick D** und **Klein R**, **2016**: “Emerging Health and Safety Issues in Makerspaces”, in: “Proceedings of the 1st International Symposium on Academic Makerspaces ISAM”, S. 100–103, <https://seas.yale.edu/sites/default/files/imce/other/ISAMMakerspaceEmergingSafetyItems.pdf>.
- [70] **Kwon O**, **Yoon C**, **Ham S**, **Park J**, **Lee J**, **Yoo D** und **Kim Y**, **2017**: “Characterization and Control of Nanoparticle Emission during 3D Printing”, in: *Environmental Science & Technology*, 51(18): S. 10357–10368, doi:10.1021/acs.est.7b01454, <http://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.est.7b01454>.
- [71] **Zontek T L**, **Ogle B R**, **Jankovic J T** und **Hollenbeck S M**, **2017**: “An exposure assessment of desktop 3D printing”, in: *Journal of Chemical Health & Safety*, 24: S. 15–25, doi:10.1016/j.jchas.2016.05.008, <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S187155321630038X>.
- [72] **Azimi P**, **Fazli T** und **Stephens B**, **2017**: “Predicting Concentrations of Ultrafine Particles and Volatile Organic Compounds Resulting from Desktop 3D Printer Operation and the Impact of Potential Control Strategies”, in: *Journal of Industrial Ecology*, 21(S1): S. 107–S119, doi:10.1111/jiec.12578, <http://doi.wiley.com/10.1111/jiec.12578>.

- [73] **Simon T R, Aguilera G A und Zhao F, 2017:** “Characterization of Particle Emission From Fuse Deposition Modeling Printers”, in: “Volume 2: Additive Manufacturing; Materials”, S. V002T01A040, ASME, ISBN 978-0-7918-5073-2, doi:10.1115/MSEC2017-3007, <http://proceedings.asmedigitalcollection.asme.org/proceeding.aspx?doi=10.1115/MSEC2017-3007>.
- [74] **Joob B und Wiwanitkit V, 2017:** “Estimation of Cancer Risk Due to Exposure to Airborne Particle Emission of a Commercial Three-dimensional Printer.”, in: *Indian journal of medical and paediatric oncology*, 38(3): S. 409, doi:10.4103/ijmpo.ijmpo\_118\_17, <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC5686999>.
- [75] **Rao C, Gu F, Zhao P, Sharmin N, Gu H und Fu J, 2017:** “Capturing PM2.5 Emissions from 3D Printing via Nanofiber-based Air Filter”, in: *Scientific Reports*, 7: S. 10366, doi:10.1038/s41598-017-10995-7, <https://www.nature.com/articles/s41598-017-10995-7.pdf>.
- [76] **Zhang Q, S Wong J P, Davis A Y, Black M S, Weber R J, Taylor B, Blank M S und Jing Wang E, 2017:** “Characterization of particle emissions from consumer fused deposition modeling 3D printers”, in: *Aerosol Science and Technology*, 5111: S. 1275–1286, doi:10.1080/02786826.2017.1342029, <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/02786826.2017.1342029>.
- [77] **Floyd E L, Wang J und Regens J L, 2017:** “Fume emissions from a low-cost 3-D printer with various filaments”, in: *Journal of Occupational and Environmental Hygiene*, 14(7): S. 523–533, doi:10.1080/15459624.2017.1302587, <http://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=uoe20>.
- [78] **Stabile L, Scungio M, Buonanno G, Arpino F und Ficco G, 2017:** “Airborne particle emission of a commercial 3D printer: the effect of filament material and printing temperature”, in: *Indoor Air*, 27(2): S. 398–408, doi:10.1111/ina.12310, <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/ina.12310>.
- [79] **Bharti N, 2017:** “3D Printing in Makerspaces: Health and Safety Concerns”, in: *Science and Technology Librarianship*, doi:10.5062/F46971TW, <http://ist1.org/17-summer/short.html>.
- [80] **Bharti N und Singh S, 2017:** “Three-Dimensional (3D) Printers in Libraries: Perspective and Preliminary Safety Analysis”, in: *Journal of Chemical Education*, 94(7): S. 879–885, doi:10.1021/acs.jchemed.6b00745, <http://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jchemed.6b00745>.

- [81] **EMORY University** und **Georgia Institute of Technology**, **2017**: “Proceedings of the Safety Science of 3D Printing Summit”, in: “1st annual safety science of 3d printing summit”, Atlanta, [http://ulchemicalsafety.org/wp-content/uploads/2017/06/3DP\\_{\\_}Proceedings\\_{\\_}Final.pdf](http://ulchemicalsafety.org/wp-content/uploads/2017/06/3DP_{_}Proceedings_{_}Final.pdf).
- [82] **Nurkiewicz T**, **Stefaniak A**, **McBride C** und **Yi J**, **2017**: “3D printer emission inhalation stimulates acute hypertension and microvascular dysfunction.”, in: “Society of Toxicology 56th Annual Meeting and ToxExpo”, S. 156(1):480, *The Toxicologist*, Baltimore, <https://www.cdc.gov/niosh/nioshtic-2/20049491.html>.
- [83] **Stefaniak A**, **LeBouf R**, **Duling M**, **Yi J**, **Abukabda A**, **McBride C** und **Nurkiewicz T**, **2017**: “Inhalation exposure to three-dimensional printer emissions stimulates acute hypertension and microvascular dysfunction”, in: *Toxicology and Applied Pharmacology*, 335: S. 1–5, doi:10.1016/j.taap.2017.09.016, <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0041008X17303885>.
- [84] **Ferraz M d A M M**, **Henning H H W**, **da Costa P F**, **Malda J**, **Le Gac S**, **Bray F**, **Van Duursen M B M**, **Brouwers J F**, **Van De Lest C H A**, **Bertijn I**, **Kraneburg L**, **Vos P L A M**, **Stout T A E** und **Gadella B M**, **2018**: “Potential Health and Environmental Risks of Three-Dimensional Engineered Polymers”, in: *Environ Sci Technol Lett* 2, 5: S. 80–85, doi:10.1021/acs.estlett.7b00495, <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/acs.estlett.7b00495>.
- [85] **Pelley J**, **2018**: “Safety Standards Aim to Rein in 3D Printer Emissions”, in: *ACS Central Science - Chemical and Engineering News*, 4: S. 134–136, doi:10.1021/acscentsci.8b00090, <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/acscentsci.8b00090>.
- [86] **Gümperlein I**, **Fischer E**, **Dietrich-Gümperlein G**, **Karrasch S**, **Nowak D**, **Jörres R A** und **Schierl R**, **2018**: “Acute health effects of desktop 3D printing (fused deposition modeling) using acrylonitrile butadiene styrene and polylactic acid materials: An experimental exposure study in human volunteers”, in: *Indoor Air*, 00: S. 1–13, doi:10.1111/ina.12458, <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/ina.12458>.
- [87] **Seeger S**, **Brödner D**, **Jacobi T**, **Rasch F**, **Rothhardt M** und **Wilke O**, **2018**: “Emissions of fine and ultrafine particles and volatile organic compounds from different filament materials operated on a low-cost 3D printer”, in: *Gefahrstoffe- Reinhaltung der Luft*, 3: S. 79–87, [https://www.gefahrstoffe.de/gest/article.php?data\[article\\_{\\_}id\]=88917](https://www.gefahrstoffe.de/gest/article.php?data[article_{_}id]=88917).

- [88] **Unfried K, Albrecht C, Klotz L O, Mikecz A V, Grether-Beck S, Roel & und Schins P F, 2007:** “Cellular responses to nanoparticles: Target structures and mechanisms”, in: *Nanotoxicology*, 1(1): S. 52–71, doi: 10.1080/00222930701314932, <https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/00222930701314932?needAccess=true>.
- [89] **Robert-Koch-Institut, 2008:** “Oxidativer stress und Möglichkeiten seiner Messung aus umweltmedizinischer Sicht.”, in: *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz*, 51(12): S. 1464–1482, doi:10.1007/s00103-008-0720-5.
- [90] **Cell Biolabs Inc., 2015,** “Oxi Select (TM) 8 -iso-Prostaglandin F2alpha ELISA Kit”, <https://www.cellbiolabs.com/sites/default/files/STA-337-isoprostane-assay-kit.pdf>.
- [91] **Milne G L, Musiek E S und Morrow J D, 2005:** “F 2 -Isoprostanes as markers of oxidative stress in vivo : An overview”, in: *Biomarkers*, 10(sup1): S. 10–23, doi: 10.1080/13547500500216546, <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/13547500500216546>.
- [92] **Mannello F, Tonti G A, Pagliarani S, Benedetti S, Canestrari F, Zhu W, Quin W und Sauer E R, 2007:** “The 8-epimer of prostaglandin F2alpha, a marker of lipid peroxidation and oxidative stress, is decreased in the nipple aspirate fluid of women with breast cancer”, in: *Int J Cancer*, 120: S. 1971–1976, doi:10.1002/ijc.22522, <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ijc.22522>.
- [93] **Cavalcante A und Bruin P, 2009:** “The role of oxidative stress in COPD: current concepts and perspectives”, in: *J Bras Pneumol*, 35(12): S. 1227–1237, [http://www.scielo.br/pdf/jbpneu/v35n12/en\\_{\\_}v35n12a11.pdf](http://www.scielo.br/pdf/jbpneu/v35n12/en_{_}v35n12a11.pdf).
- [94] **Brocker C, Thompson D, Matsumoto A, Nebert D W und Vasilio V, 2010:** “Evolutionary divergence and functions of the human interleukin (IL) gene family”, in: *Human Genomics*, 5(1): S. 30–55, <https://humgenomics.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/1479-7364-5-1-30>.
- [95] **Commins S P, Borish L, Steinke J W und Charlottesville V, 2010:** “Immunologic messenger molecules: Cytokines, interferons, and chemokines”, in: *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 125(2): S. S53–S72, doi:10.1016/j.jaci.2009.07.008, [https://www.jacionline.org/article/S0091-6749\(09\)01075-6/pdf](https://www.jacionline.org/article/S0091-6749(09)01075-6/pdf).
- [96] **Riechelmann H und Deutschle T, 2003:** “Forschungsbericht FZKA-BWPLUS Wirkung niedrig-toxischer und urbaner Stäube auf das Zell- und Zytokinmuster der humanen Nasenschleimhaut”, Techn. Ber., Universitäts-HNO-Klinik,

Ulm, <http://www.fachdokumente.lubw.baden-wuerttemberg.de/servlet/is/40147/BWB20004SBer.pdf?command=downloadContent{%&}filename=BWB20004SBer.pdf{%&}FIS=203>.

- [97] **Wang Z, Malmberg P, Ek A, Larsson K und Palmberg L, 1999:** “Swine dust induces cytokine secretion from human epithelial cells and alveolar macrophages.”, in: *Clinical and experimental immunology*, 115(1): S. 6–12, doi:10.1046/J.1365-2249.1999.00776.X, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9933414>.
- [98] **Jaffer U, Wade R G und Gourlay T, 2010:** “Cytokines in the systemic inflammatory response syndrome: a review.”, in: *HSR proceedings in intensive care & cardiovascular anaesthesia*, 2(3): S. 161–75, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23441054>.
- [99] **Turner M D, Nedjai B, Hurst T und Pennington D J, 2014:** “Cytokines and chemokines: At the crossroads of cell signalling and inflammatory disease”, in: *Biochimica et Biophysica Acta*, 1843: S. 2563–2582, doi:10.1016/j.bbamcr.2014.05.014, <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167488914001967>.
- [100] **Scheller J, Chalaris A, Schmidt-Arras D und Rose-John S, 2011:** “The pro- and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6”, in: *BBA - Molecular Cell Research*, 1813: S. 878–888, doi:10.1016/j.bbamcr.2011.01.034, <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167488911000425>.
- [101] **Brown D M, Donaldson K, Borm P J, Schins R P, Dehnhardt M, Gilmore P, Jimenez L A und Stone V, 2004:** “Calcium and ROS-mediated activation of transcription factors and TNF- $\alpha$  cytokine gene expression in macrophages exposed to ultrafine particles”, in: *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 286: S. L344–L353, doi:10.1152/ajplung.00139.2003, <https://www.physiology.org/doi/pdf/10.1152/ajplung.00139.2003>.
- [102] **Thermo Scientific - Phadia GmbH, 2014:** “Bestimmung von Eosinophilen kationischem Protein (ECP)”, Techn. Ber., Thermo Scientific, Uppsala, <http://www.phadia.com/Global/MarketCompanies/Germany/Dokumentenbibliothek/PromotionsmaterialAllergie/ImmunoCAPECP09-2014.pdf>.
- [103] **Bystrom J, Amin K und Bishop-Bailey D, 2011:** “Analysing the eosinophil cationic protein - a clue to the function of the eosinophil granulocyte”, in: *Respiratory Research*, 12(10), <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3030543/pdf/1465-9921-12-10.pdf>.

- [104] **Klimek L** und **Rasp G**, **1999**: “Norm values for eosinophil cationic protein in nasal secretions: influence of specimen collection”, in: *Clinical & Experimental Allergy*, 29(3): S. 367–374, ISSN 1365-2222, doi:10.1046/J.1365-2222.1999.00494.X, <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1365-2222.1999.00494.x/full>.
- [105] **Ricciardolo M**, **2003**: “Multiple roles of nitric oxide in the airways”, in: *Thorax*, 58: S. 175–182, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1746564/pdf/v058p00175.pdf>.
- [106] **Berry M A**, **Shaw D E**, **Green R H**, **Brightling C E**, **Wardlaw A J** und **Pavord I D**, **2005**: “The use of exhaled nitric oxide concentration to identify eosinophilic airway inflammation: An observational study in adults with asthma”, in: *Clinical and Experimental Allergy*, 35(9): S. 1175–1179, doi:10.1111/j.1365-2222.2005.02314.x, <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-2222.2005.02314.x>.
- [107] **Karrasch S**, **Linde K**, **Rücker G**, **Sommer H**, **Karsch-Völk M**, **Kleijnen J**, **Jörres R A** und **Schneider A**, **2017**: “Accuracy of FeNO for diagnosing asthma: a systematic review”, in: *Thorax*, 72(2): S. 109–116, doi:10.1136/thoraxjnl-2016-208704, <http://thorax.bmj.com/lookup/doi/10.1136/thoraxjnl-2016-208704>.
- [108] **Payne D N R**, **2003**: “Nitric oxide in allergic airway inflammation.”, in: *Current opinion in allergy and clinical immunology*, 3(2): S. 133–7, ISSN 1528-4050, doi:10.1097/01.all.0000064777.71837.06, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12750610>.
- [109] **Pedrosa M**, **Cancelliere N**, **Barranco P**, **López-Carrasco V** und **Quirce S**, **2010**: “Usefulness of Exhaled Nitric Oxide for Diagnosing Asthma”, in: *Journal of Asthma*, 47(7): S. 817–821, doi:10.3109/02770903.2010.491147, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20718633>.
- [110] **Zuiker R G J A**, **Boot J D**, **Calderon C**, **Piantone A**, **Petty K**, **de Kam M** und **Diamant Z**, **2010**: “Sputum induction with hypertonic saline reduces fractional exhaled nitric oxide in chronic smokers and non-smokers”, in: *Respiratory medicine*, 104(6): S. 917–20, doi:10.1016/j.rmed.2010.02.006, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20227269>.
- [111] **Schober W**, **Szendrei K**, **Matzen W**, **Osiander-Fuchs H**, **Heitmann D**, **Schettgen T**, **Jörres R A** und **Fromme H**, **2014**: “Use of electronic

- cigarettes (e-cigarettes) impairs indoor air quality and increases FeNO levels of e-cigarette consumers”, in: *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 217(6): S. 628–637, doi:10.1016/j.ijheh.2013.11.003, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijheh.2014.02.003>.
- [112] **Bailer J, Rist F, Witthöft M und Paul C, 2004:** “Validation of a Screening Instrument for Multiple Chemical Sensitivity (MCS): The Chemical Odor Sensitivity”, in: *Bibliografie Psychother Psych Med*, 54: S. 396–404, doi:10.1055/s-2004-82835.
- [113] **Javors M A, Hatch J P und Lamb R J, 2005:** “Cut-off levels for breath carbon monoxide as a marker for cigarette smoking”, in: *Addiction*, 100(2): S. 159–167, doi:10.1111/j.1360-0443.2004.00957.x, <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1360-0443.2004.00957.x>.
- [114] **Dweik R A, Boggs P B, Erzurum S C, Irvin C G, Leigh M W, Lundberg J O, Olin A C, Plummer A L und Taylor D R, 2011:** “An Official ATS Clinical Practice Guideline: Interpretation of Exhaled Nitric Oxide Levels (FeNO) for Clinical Applications”, in: *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 184(5): S. 602–615, doi:10.1164/rccm.9120-11ST, <http://www.atsjournals.org/doi/abs/10.1164/rccm.9120-11ST>.
- [115] **Muzz64, 2016,** “Fish Fossilz. [www.thingiverse.com/thing:1276095](http://www.thingiverse.com/thing:1276095)”, <https://www.thingiverse.com/thing:1276095> (Aufgerufen am: 2016-06-20).
- [116] **Kramer M F, Burow G, Pfrogner E und Rasp G, 2004:** “In vitro diagnosis of chronic nasal inflammation”, in: *Clinical & Experimental Allergy*, 34(7): S. 1086–1092, doi:10.1111/J.1365-2222.2004.01989.X, <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2222.2004.01989.x/pdf>.
- [117] **Milne G L, Sanchez S C, Musiek E S und Morrow J D, 2007:** “Quantification of F2-isoprostanes as a biomarker of oxidative stress”, in: *Nature Protocols*, 2(1): S. 221–226, doi:10.1038/nprot.2006.375, <http://www.nature.com/doi/10.1038/nprot.2006.375>.
- [118] **Tsikas D und Suchy M T, 2016:** “Protocols for the measurement of the F2-isoprostane, 15(S)-8-iso-prostaglandin F2a, in biological samples by GC-MS or GC-MS/MS coupled with immunoaffinity column chromatography”, in: *Journal of Chromatography B*, 1019: S. 191–201, doi:10.1016/j.jchromb.2014.12.019, [https://ac.els-cdn.com/S1570023214007715/1-s2.0-S1570023214007715-main.pdf?\\_{\\_}tid=b6b354fb-313d-4e02-873b-2d343d36e041{&}acdnat=1528279427\\_{\\_}5537eeac628e4cc4d95890ed3379f5f4](https://ac.els-cdn.com/S1570023214007715/1-s2.0-S1570023214007715-main.pdf?_tid=b6b354fb-313d-4e02-873b-2d343d36e041&acdnat=1528279427_{_}5537eeac628e4cc4d95890ed3379f5f4).

- [119] **Bessard J, Cracowski J L, Stanke-Labesque F und Bessard G, 2001:** “Determination of isoprostaglandin F<sub>2</sub>alpha type III in human urine by gas chromatography-electronic impact mass spectrometry. Comparison with enzyme immunoassay.”, in: *J Chromatogr B Biomed Sci Appl*, 754(2): S. 333–43, doi:10.1016/S0378-4347(00)00621-6, <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378434700006216>.
- [120] **Xiao Y, Fu X, Pattengale P, Dien Bard J, Xu Y K und O’Gorman M R, 2016:** “A sensitive LC-MS/MS method for the quantification of urinary 8-iso-prostaglandin F<sub>2</sub>α (8-iso-PGF<sub>2</sub>α) including pediatric reference interval”, in: *Clinica Chimica Acta*, 460: S. 128–134, doi:10.1016/j.cca.2016.06.034, <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0009898116302790>.
- [121] **Miller M R, Hankinson J, Brusasco V, Burgos F, Casaburi R, Coates A, Crapo R, Enright P, Van Der Grinten C P M, Gustafsson P, Jensen R, Johnson D C, Macintyre N, Mckay R, Navajas D, Pedersen O F, Pellegrino R, Viegi G und Wanger J, 2015:** “Standardisation of spirometry”, in: *Eur Respir J*, 26: S. 319–338, doi:10.1183/09031936.05.00034805, <https://www.a-msystems.com/pub/ATS{ }Guidelines.pdf>.
- [122] **Quanjer P, Stanojevic S, Cole T und Stocks J, 2014,** “GLI-2012 Desktop Software for Individual Calculations”, <http://www.ers-education.org/guidelines/global-lung-function-initiative/spirometry-tools/desktop-individual-calculator.aspx>.
- [123] **Kaminsky D A, 2012:** *Medizinischer Atlas - Atmungssystem*, erste Aufl., Elsevier GmbH, München, ISBN 3437591991.
- [124] **American Thoracic Society und European Respiratory Society, 2005:** “ATS/ERS Recommendations for Standardized Procedures for the Online and Off-line Measurement of Exhaled Lower Respiratory Nitric Oxide and Nasal Nitric Oxide, 2005”, in: *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 171(8): S. 912–930, doi:10.1164/rccm.200406-710ST, <http://www.atsjournals.org/doi/abs/10.1164/rccm.200406-710ST>.
- [125] **Bailer J, Witthöft M und Rist F, 2006:** “The Chemical Odor Sensitivity Scale: Reliability and validity of a screening instrument for idiopathic environmental intolerance”, in: *Journal of Psychosomatic Research*, 61(1): S. 71–79, doi:10.1016/j.jpsychores.2005.11.005, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16813848>.

- [126] **Innenraumlufthygiene-Kommission des Umweltbundesamtes, 2008:** “Guidelines for Indoor Air Hygiene in School Buildings”, Techn. Ber., Umweltbundesamtes, Berlin, <http://www.umweltbundesamt.de/index-e.htm>.
- [127] **Schmid O und Cassee F R, 2017:** “On the pivotal role of dose for particle toxicology and risk assessment: exposure is a poor surrogate for delivered dose.”, in: *Particle and fibre toxicology*, 14(1): S. 52, ISSN 1743-8977, doi:10.1186/s12989-017-0233-1, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29216928><http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC5721476>.
- [128] **IBM Deutschland GmbH,** “IBM Knowledge Center - SPSS Statistics 22.0.0”, [https://www.ibm.com/support/knowledgecenter/de/SSLVMB\\_{\\_}22.0.0/com.ibm.spss.statistics.help/spss/base/whatsnew\\_{\\_}22.htm](https://www.ibm.com/support/knowledgecenter/de/SSLVMB_{_}22.0.0/com.ibm.spss.statistics.help/spss/base/whatsnew_{_}22.htm) (Aufgerufen am: 2018-01-29).
- [129] **Seet R C, Lee C Y J, Loke W M, Huang S H, Huang H, Looi W F, Chew E S, Quek A M, Lim E C und Halliwell B, 2011:** “Biomarkers of oxidative damage in cigarette smokers: Which biomarkers might reflect acute versus chronic oxidative stress?”, in: *Free Radical Biology and Medicine*, 50: S. 1787–1793, doi:10.1016/j.freeradbiomed.2011.03.019, <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2011.03.019>.
- [130] **Arbeitsgemeinschaft ökologischer Forschungsinstitute e.V., 2013:** “AGÖF-Orientierungswerte für flüchtige organische Verbindungen in der Raumluft”, Techn. Ber., AGÖF, Springe-Eldagsen.
- [131] **Fromme H, Heitmann D, Dietrich S, Schierl R, Körner W, Kiranoglu M, Zapf A und Twardella D, 2008:** “Raumluftqualität in Schulen - Belastung von Klassenräumen mit Kohlendioxid (CO<sub>2</sub>), flüchtigen organischen Verbindungen (VOC), Aldehyden, Endotoxinen und Katzenallergenen”, in: *Gesundheitswesen*, 70: S. 88–97, doi:10.1055/s-2008-1046775, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18348098>.
- [132] **WHO, 1999:** “Dust: Definitions and Concepts”, in: “Hazard prevention and control in the work environment: Airborne dust”, S. 1–12, WHO/SDE/OEH/99.14, [http://www.who.int/occupational\\_{\\_}health/publications/en/oehairbornedust2.pdf](http://www.who.int/occupational_{_}health/publications/en/oehairbornedust2.pdf).
- [133] **Nowak D, Seeger S, Langner J, Jörres R A, Karrasch S, Ehret M, Herbig B und Schierl R, 2014:** “Untersuchung möglicher gesundheitlicher Gefährdungen

durch Ducker- und Kopierer-Emissionen”, Techn. Ber., DGUV, <http://www.dguv.de/projektdatenbank/0294a/3228283v1.pdf>.

- [134] **Morinaka S** und **Nakamura H**, **2000**: “Inflammatory cells in nasal mucosa and nasal polyps”, in: *Auris Nasus Larynx*, 27: S. 59–64, doi:10.1016/S0385-8146(99)00038-3, <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0385814699000383>.
- [135] **Nowak D**, **Jörres R**, **Martinez-Müller L**, **Grimminger F**, **Seeger W**, **Koops F** und **Magnussen H**, **1997**: “Effect of 3 hours of passive smoke exposure in the evening on inflammatory markers in bronchoalveolar and nasal lavage fluid in subjects with mild asthma.”, in: *International archives of occupational and environmental health*, 70: S. 85–93, doi:10.1007/s004200050191, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9253636>.
- [136] **Oberdörster G**, **Maynard A**, **Donaldson K**, **Castranova V**, **Fitzpatrick J**, **Ausman K**, **Carter J**, **Karn B**, **Kreyling W**, **Lai D**, **Olin S**, **Monteiro-Riviere N**, **Warheit D** und **Yang H**, **2005**: “Principles for characterizing the potential human health effects from exposure to nanomaterials: elements of a screening strategy”, in: *Particle and Fibre Toxicology*, 2(8), doi:10.1186/1743-8977-2-8, <http://particleandfibretoxicology.biomedcentral.com/articles/10.1186/1743-8977-2-8>.
- [137] **Kramer M F**, **Jordan T R**, **Klemens C**, **Hilgert E**, **Hempel J M**, **Pfrogner E** und **Rasp G**, **2006**: “Factors contributing to nasal allergic late phase eosinophilia”, in: *American Journal of Otolaryngology - Head and Neck Medicine and Surgery*, 27(3): S. 190–199, doi:10.1016/j.amjoto.2005.09.013, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16647984>.
- [138] **Allport D C**, **Gilbert D S** und **Outterside S M**, **2003**: *MDI and TDI : Safety, health and the environment : a source book and practical guide*, J. Wiley, ISBN 0470862165.
- [139] **Dressel H**, **de la Motte D**, **Reichert J**, **Ochmann U**, **Petru R**, **Angerer P**, **Holz O**, **Nowak D** und **Jörres R A**, **2008**: “Exhaled nitric oxide: Independent effects of atopy, smoking, respiratory tract infection, gender and height”, in: *Respiratory Medicine*, 102(7): S. 962–969, doi:10.1016/j.rmed.2008.02.012, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18396030>.

- [140] **Marini S, Buonanno G, Stabile L und Ficco G, 2014:** “Short-term effects of electronic and tobacco cigarettes on exhaled nitric oxide”, in: *Toxicology and Applied Pharmacology*, 278: S. 9–15, doi:10.1016/j.taap.2014.04.004.
- [141] **Zhang X, Staimer N, Gillen D L, Tjoa T, Schauer J J, Shafer M M, Hasheeminassab S, Pakbin P, Vaziri N D, Sioutas C und Delfino R J, 2016:** “Associations of oxidative stress and inflammatory biomarkers with chemically-characterized air pollutant exposures in an elderly cohort”, in: *Environmental Research*, 150: S. 306–319, doi:10.1016/j.envres.2016.06.019.
- [142] **Beier J, Beeh K M, Kornmann O und Buhl R, 2003:** “Sputum induction leads to a decrease of exhaled nitric oxide unrelated to airflow.”, in: *The European respiratory journal*, 22: S. 354–7, doi:10.1183/09031936.03.00118602, <http://erj.ersjournals.com/content/22/2/354.long>.
- [143] **Ogata M und Taguchi T, 1987:** “Quantitation of urinary metabolites of toluene, xylene, styrene, ethylbenzene, benzene and phenol by automated high performance liquid chromatography”, in: *International archives of occupational and environmental health*, 59(3): S. 263–72, doi:10.1007/BF00377738, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3570490>.
- [144] **Shi C Y, Chua S C, Lee B L, Ong H Y, Jeyaratnam J und Ong C N, 1994:** “Kinetics of styrene urinary metabolites: a study in a low-level occupational exposure setting in Singapore”, in: *International archives of occupational and environmental health*, 65(5): S. 319–23, doi:10.1007/BF00405696, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8175187>.
- [145] **Weisel C P, 2010:** “Benzene exposure: An overview of monitoring methods and their findings”, in: *Chem Biol Interact March*, 19(1840): S. 58–66, doi:10.1016/j.cbi.2009.12.030, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4009073/pdf/nihms575366.pdf>.
- [146] **Pilz H, Oguogho A, Chehne F, Lupattelli G, Palumbo B und Sinzinger H, 2000:** “Quitting cigarette smoking results in a fast improvement of in vivo oxidation injury (determined via plasma, serum and urinary isoprostane)”, in: *Thrombosis Research*, 99(3): S. 209–221, doi:10.1016/S0049-3848(00)00249-8.
- [147] **Obata T, Tomaru K, Nagakura T, Izumi Y und Kawamoto T, 2000:** “Smoking and oxidant stress: Assay of isoprostane in human urine by gas chromatography-mass spectrometry”, in: *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 746(1): S. 11–15, doi:10.1016/S0378-4347(00)00182-1.

- [148] **Helmerson J, Larsson A, Vessby B und Basu S, 2005:** “Active smoking and a history of smoking are associated with enhanced prostaglandin F2alpha, interleukin-6 and F2-isoprostane formation in elderly men”, in: *Atherosclerosis*, 181(1): S. 201–207, doi:10.1016/j.atherosclerosis.2004.11.026.
- [149] **Office of Environmental Health Hazard Assessment (OEHHA), 2008,** “Technical Support Document for noncancer RELs - Appendix F: Estimating human equivalent concentrations”, <https://oehha.ca.gov/media/downloads/crnrr/appendixf071808.pdf>.
- [150] **3dimensionals.de,** “Upgrade HEPA Filterung für Ultitop 1-2 Druckerabdeckung COVERING”, <https://www.3dimensionals.de/upgrade-hepa-filterung-fuer-ultitop-drucker-abdeckung-covering-fuer-ultimaker-familie> (Aufgerufen am: 2018-04-16).

# Abbildungsverzeichnis

1.1. Schematische Darstellung des Bronchialbaums. . . . .	5
1.2. Regionale Deposition in Abhängigkeit der Partikelgröße . . . . .	6
1.3. Aufbau der Lungenschleimhaut mit Flimmerepithel. . . . .	9
1.4. Schichtdruckverfahren. . . . .	12
1.5. Definition der Staubfraktionen im Bereich Arbeits- und Umweltschutz. . .	15
1.6. Steigende Anzahl von Veröffentlichungen zu Emissionen von 3D-Druckern.	16
1.7. Enzymatischer und nicht-enzymatischer Abbaupfad der Arachidonsäure. .	20
1.8. Strukturformel von Stickstoffmonoxid. . . . .	23
2.1. Ablauf der Probandenakquirierung. . . . .	27
2.2. Druckobjekt während der Exposition. . . . .	30
2.3. Position des Probanden während der Exposition. . . . .	31
2.4. Partikelmessung während ABS-Druck. . . . .	32
2.5. Korrelation von CPC und Partector. . . . .	33
2.6. Aufbau der Partikelmessgeräte. . . . .	34
2.7. Partikelgrößenverteilung während ABS-Druck. . . . .	35
2.8. Probenahme per DNPH Kartusche. . . . .	36
2.9. Silylierung von 8- <i>iso</i> - $PGF_{2\alpha}$ . . . . .	40
2.10. Massenspektrum eines derivatisierten 8- <i>iso</i> - $PGF_{2\alpha}$ . . . . .	41
2.11. Fragmentierung des TMS-Derivats von 8- <i>iso</i> - $PGF_{2\alpha}$ . . . . .	42
2.12. Prinzipschema der klinischen Bedeutung von $FEV_1$ und FVC. . . . .	45
3.1. Zeitl. Verlauf der Partikelemissionen während aller Expositionen. . . . .	50
3.2. Mittelwerte der LDSA für alle Expositionen. . . . .	51
3.3. Luftqualitätsparameter während ABS-Druck. . . . .	51
3.4. Verteilung der Zytokinkonzentration von IL-6. . . . .	54
3.5. Profildigramme der Innersubjektffaktoren der Zytokinkonzentrationen. . .	55
3.6. Mittelwerte der logarithmierten Differenzen der vier Zytokine. . . . .	57
3.7. Korrelation der logarithmierten Differenzen von $IFN-\gamma$ und $TNF-\alpha$ . . . . .	60
3.8. Korrelation der logarithmierten Differenzen von IL- $1\beta$ und IL-6. . . . .	61

3.9. Lungenparameter FEV <sub>1</sub> und FVC bei der Voruntersuchung. . . . .	64
3.10. FEV1 und FVC jeweils vor und nach ABS bzw. PLA. . . . .	65
3.11. Mittelwerte der logarithmierten FeNO-Werte. . . . .	69
3.12. Korrelation der FeNO- und ECP-Werte . . . . .	70
3.13. 8 – iso – PGF <sub>2α</sub> -Konzentrationen im Urin . . . . .	72
3.14. Verläufe der 8 – iso – PGF <sub>2α</sub> -Konzentrationen. . . . .	73
3.15. Mittelwerte Symptomfragebogen. . . . .	75
3.16. Mittelwerte der allgemeinen Befindlichkeit. . . . .	77
3.17. Temperaturabhängigkeit der VOC-Emission. . . . .	79
3.18. Aldehyde gemessen via HPLC. . . . .	80
3.19. Chromatogramm der HPLC-Analyse. . . . .	81

# Tabellenverzeichnis

2.1. Charakteristiken der Studienteilnehmer. . . . .	26
2.2. Ablauf eines Expositionstages. . . . .	28
2.3. Eigenschaften der Partikelmessgeräte. . . . .	34
3.1. Konzentrationen der Zytokine im Nasensekret. . . . .	54
3.2. Signifikanzwerte für die vier Zytokine im Nasensekret. . . . .	54
3.3. Innersubjekteffekte der Zytokinwerte. . . . .	55
3.4. Korrelationsanalyse der vier Zytokine im Nasensekret. . . . .	59
3.5. Konzentrationen von ECP im Nasensekret. . . . .	62
3.6. Korrelation der FEV <sub>1</sub> - bzw. FVC-Werte. . . . .	64
3.7. Mittelwerte der Spirometriemessungen. . . . .	65
3.8. FeNO Ergebnisse. . . . .	67
3.9. Test auf Signifikanz der FeNO-Werte zwischen den Expositionen. . . . .	68
3.10. Innersubjektfaktoren FeNO. . . . .	68
3.11. Innersubjekt kontraste FeNO. . . . .	68
3.12. Konzentrationen von 8- <i>iso</i> -PGF <sub>2α</sub> im Urin. . . . .	72
3.13. Signifikanzen Symptomfragebogen. . . . .	76
3.14. Aldehydkonzentrationen von ABS/PLA mit Vergleichswerten. . . . .	82
A.1. Spirometrieergebnisse. . . . .	126
A.2. Konzentration des exhalieren CO. . . . .	127

# Abkürzungsverzeichnis

8-iso-PGF <sub>2</sub> α	8-iso-Prostaglandin F <sub>2</sub> α
ABS	Acrylnitril-Butadien-Styrol
AGS	Ausschuss für Gefahrstoffe
AGW	Arbeitsplatzgrenzwert
ANOVA	analysis of variance
BMAS	Bundesministerium für Arbeit und Soziales
BSTFA	N,O-Bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamid
CAUS	chemische und allgemeine Umweltsensitivität
CNT	carbon nanotubes
CO <sub>2</sub>	Kohlenstoffdioxid
COPD	chronic obstructive pulmonary disease
DFG	Deutsche Forschungsgemeinschaft
DGUV	Deutsche Gesetzliche Unfallversicherung
eCO	exhalierendes Kohlenstoffmonoxid
ECP	eosinophiles kationisches Protein
EI	Elektronenionisation
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
FDM	fused deposition modeling

FeNO	fraktioniertes exhalierendes Stickstoffmonoxid
FEV1	forced expiratory volume in 1 second
FFF	fused filament fabrication
FVC	forced vital capacity
GC-MS/MS	Gaschromatograf mit Tandem-Massenspektrometer
GESTIS	Gefahrstoffinformationssystem
GM-CSF	granulocyte macrophage colony-stimulating factor
HPLC	high performance liquid chromatography
IFA	Institut für Arbeitsschutz
IFN- $\gamma$	Interferon- $\gamma$
IS	interner Standard
LDSA	lungengängige Partikeloberfläche
LLOD	lower limit of detection
MAK-Wert	maximale Arbeitsplatzkonzentration
MRM	multi reaction monitoring
PBS	phosphate buffered saline
PLA	Polylactid
PM	Particulate Matter
ppb	parts per billion
ppm	parts per million
ROS	reactive oxygen species
SD	standard deviation
SEM	standard error of the mean

SIM	selected ion monitoring
SPE	solid phase extraction
SPME	solid phase microextraction
STL	Stereolithographie
TGRS	Technische Regel für Gefahrstoffe
TMCS	Trimethylchlorosilan
TVOC	total volatile organic compounds
UBA	Umweltbundesamt
UFP	ultrafeine Partikel
VAS	visuelle Analogskala
VOC	volatile organic compound

# A. Anhang

## A.1. Datentabellen

In diesem Abschnitt sind die Rohdaten der Spirometrie und des exhalieren Kohlenstoffmonoxids aufgeführt.

# Proband	FEV <sub>1</sub> [L]					FVC [L]						
	Vorunters.	% Sollwert	vor ABS	nach ABS	vor PLA nach PLA	Vorunters.	% Sollwert	vor ABS	nach ABS	vor PLA nach PLA		
01	3,92	96,8	3,78	3,88	3,86	3,88	4,47	93,1	4,32	4,29	4,43	4,23
02	4,98	108,0	4,69	4,53	4,74	4,81	6,33	113,5	6,26	6,05	6,31	6,40
03	4,23	110,5	4,34	4,37	4,25	4,34	4,86	107,9	5,04	5,01	4,98	4,89
04	3,03	86,9	3,05	2,94	3,01	2,96	3,66	88,7	3,81	3,57	3,62	3,65
05	3,85	90,8	3,68	3,73	3,76	3,71	4,82	95,7	4,80	4,86	4,74	4,75
06	2,97	80,1	2,99	3,03	3,11	3,15	3,69	86,7	3,50	3,58	3,64	3,68
07	5,51	95,0	5,34	5,37	5,20	5,23	6,88	98,3	6,83	6,83	6,95	6,96
08	5,99	101,4	5,87	5,93	6,09	6,06	7,11	98,5	7,21	7,13	7,17	7,25
09	4,96	102	5,02	5,10	4,92	5,01	4,01	103,9	6,08	6,21	6,36	6,06
10	4,46	111,2	4,12	4,27	4,33	4,30	5,08	106,9	4,69	4,90	5,04	4,94
11	3,58	112,1	3,50	3,38	3,60	3,56	3,93	104,2	4,00	3,90	4,13	4,03
12	3,32	87,6	2,85	2,98	2,96	2,99	4,27	94,9	4,14	4,18	4,15	3,91
13	3,04	77,3	3,21	3,14	3,15	3,15	4,05	90,14	4,31	4,19	4,28	4,29
14	3,53	93,1	3,67	3,71	3,68	3,59	4,30	95,6	4,74	4,60	4,67	4,65
15	3,02	89,3	3,04	3,13	3,06	3,01	4,04	101,8	4,13	4,16	4,13	4,02
16	3,26	107,4	3,68	3,68	3,72	3,64	4,20	118,5	4,61	4,56	4,85	4,61
17	4,67	135,8	4,72	4,73	4,65	4,65	5,37	132,2	5,53	5,57	5,47	5,52
18	3,83	106,7	4,00	3,89	3,96	4,02	4,44	105,3	4,71	4,56	4,63	4,67
19	4,08	114,7	4,13	4,31	4,31	4,14	4,68	113,9	4,88	5,08	5,05	4,81
20	4,27	114,7	4,29	4,26	4,26	4,27	5,53	126,0	5,57	5,64	5,05	5,71
21	5,53	100,5	5,39	5,41	5,75	5,36	6,52	97,7	6,40	6,49	6,45	6,49
22	4,47	111,2	4,43	4,26	4,30	4,39	5,07	106,6	5,13	4,83	5,09	5,07
23	4,74	91,9	4,79	4,74	4,59	4,59	5,67	91,7	5,80	5,58	5,70	5,51
24	5,01	111,0	4,90	4,83	4,92	4,65	5,85	107,6	5,68	5,63	5,68	5,68
25	4,50	89,4	4,66	4,39	4,65	4,52	5,34	89,8	5,44	5,31	5,55	5,47
26	4,94	105,6	5,00	4,84	5,06	5,08	6,29	111,2	6,18	6,07	6,30	6,26

Tabelle A.1.: Ergebnisse der Spirometrie-Messungen. FEV<sub>1</sub> (Einsekundenkapazität) und FVC (forcierte Vitalkapazität) (in L) an allen fünf Zeitpunkten.

# Proband	CO in ppm			Standardabweichung
	Voruntersuchung	vor ABS	vor PLA	
01	2	4	3	0,8
02	3	4	4	0,5
03	3	3	4	0,5
04	2	3	4	0,8
05	2	5	3	1,2
06	2	3	3	0,5
07	4	3	6	1,2
08	3	3	3	0,0
09	4	5	3	0,8
10	4	3	3	0,5
11	1	4	3	1,2
12	2	5	5	1,4
13	2	3	3	0,5
14	2	3	2	0,5
15	2	2	3	0,5
16	5	2	5	1,4
17	5	3	3	0,9
18	3	3	5	0,9
19	2	3	3	0,5
20	3	4	3	0,5
21	3	3	3	0,0
22	4	4	4	0,0
23	4	5	4	0,5
24	4	4	4	0,0
25	2	3	3	0,5
26	3	3	4	0,5
Mittelwert	2,9	3,5	3,6	0,6

Tabelle A.2.: Konzentrationen des exhalieren Kohlenstoffmonoxids (eCO) in ppm. Es wurden nur Probanden zugelassen, die bei der Voruntersuchung einen Wert von  $\leq 5$  ppm hatten. Die weiteren Messungen erfolgten jeweils am Morgen des Expositionstages.

## A.2. Fragebögen

Nachfolgend wurden angehängt:

**Anamnesebogen** zur Aufnahme aller gesundheitsrelevanter Informationen. (4 Seiten)

**CAUS** Fragebogen zur chemischen und allgemeinen Umweltsensitivität. Wurde einmalig im Rahmen der Voruntersuchung erhoben. (1 Seite)

**Symptomfragebogen** wurde direkt nach jeder Exposition vom Probanden ausgefüllt. (4 Seiten)

# Anamnese

Datum \_\_\_\_\_

PNr. : \_\_\_\_\_

<b>1</b>	Hat ein Arzt bei Ihnen jemals eine chronische Erkrankung festgestellt? <i>(Herz, Leber, Niere, Blut, Gefäßerkrankungen, Magen-Darm-Trakt, Pankreas, Gallenwege, Stoffwechsel, Nervensystem, Bewegungsapparat, Haut, Infektionskrankheiten)</i>	
<b>2</b>	Sind bei Ihnen Allergien bekannt?	
<b>3</b>	Nehmen Sie regelmäßig Medikamente?	
<b>3a</b>	Haben Sie heute bereits Medikamente eingenommen? → Falls ja, welche?	

<b>4</b>	Hat ein Arzt bei Ihnen jemals die Diagnose „chronische Bronchitis“ gestellt?	
<b>5</b>	Hat ein Arzt bei Ihnen jemals die Diagnose „COPD“ gestellt?	
<b>6</b>	Hat ein Arzt bei Ihnen jemals die Diagnose „Lungenemphysem“ gestellt?	
<b>7</b>	Hat ein Arzt bei Ihnen jemals die Diagnose „Asthma“ gestellt?	

# Anamnese

Datum \_\_\_\_\_

PNr. : \_\_\_\_\_

8	Hatten Sie in den letzten 3 Jahren asthmatische Beschwerden (z.B. einen Asthma-Anfall)?	
9	Hat ein Arzt bei Ihnen jemals eine andere Lungenerkrankung als die bislang genannten diagnostiziert?	
10	War Ihre Atmung in den letzten 2 Wochen ...?	<input type="checkbox"/> 1 Schlechter als normalerweise <input type="checkbox"/> 2 Wie immer <input type="checkbox"/> 3 Besser als normalerweise
11	Hatten Sie in den letzten 3 Tagen Beschwerden mit allergischem Schnupfen, zum Beispiel „Heuschnupfen“?	<input type="checkbox"/> 1 Ja <input type="checkbox"/> 2 Nein
12	Hatten Sie in den letzten 3 Wochen eine Atemwegsinfektion?	<input type="checkbox"/> 1 Ja <input type="checkbox"/> 2 Nein → 13
	Vor wie vielen Tagen war der Infekt auskuriert?	Anzahl Tage  __ __
13	Haben Sie im letzten Monat Antihistaminika genommen?	<input type="checkbox"/> 1 Ja <input type="checkbox"/> 2 Nein
14	Trifft einer der folgenden Punkte auf Sie zu? <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Herzbeschwerden in den letzten 3 Monaten</li> <li>▪ Herzinfarkt im letzten Monat</li> </ul>	<input type="checkbox"/> 1 Ja <input type="checkbox"/> 2 Nein
15	Wann haben Sie zuletzt etwas gegessen?	vor __ h __ min
16	Was haben Sie dabei gegessen?	_____ _____
17	Wann haben Sie zuletzt etwas getrunken?	vor __ h __ min
17a	Was haben Sie dabei getrunken?	_____ _____
18	Haben Sie heute bereits Sport getrieben?	<input type="checkbox"/> 1 Ja <input type="checkbox"/> 2 Nein → 19
18a	Wann haben Sie heute Sport getrieben?	vor __ h __ min

# Anamnese

Datum \_\_\_\_\_

PNr. : \_\_\_\_\_

<b>19</b>	Rauchen Sie zurzeit Zigaretten?	<input type="checkbox"/> 1 Ja <input type="checkbox"/> 2 Nein → <b>20</b>
	In welchem Jahr haben Sie mit dem Zigarettenrauchen begonnen oder wie alt waren Sie damals? Jahr / damaliges Alter in Jahren	
	Rauchen Sie regelmäßig oder gelegentlich? ( <i>gelegentlich = gewöhnlich weniger als eine Zigarette pro Tag</i> )	<input type="checkbox"/> 1 Regelmäßig <input type="checkbox"/> 2 Gelegentlich
	Wie viele Zigaretten rauchen Sie durchschnittlich pro Tag?	
<b>20</b>	Haben Sie jemals Zigaretten geraucht? (Rauchen von Zigarren, Pfeife o. ä. ist nicht gemeint.)	<input type="checkbox"/> 1 Ja, regelmäßig <input type="checkbox"/> 2 Ja, gelegentlich <input type="checkbox"/> 3 Nein → <b>21</b>
	In welchem Jahr haben Sie mit dem Zigarettenrauchen begonnen oder wie alt waren Sie damals? Jahr / damaliges Alter in Jahren	
	Wann haben Sie mit dem Zigarettenrauchen aufgehört? Jahr / damaliges Alter in Jahren	
	Haben Sie regelmäßig oder gelegentlich geraucht? ( <i>gelegentlich = gewöhnlich weniger als eine Zigarette pro Tag</i> )	<input type="checkbox"/> 1 Regelmäßig <input type="checkbox"/> 2 Gelegentlich
	Wie viele Zigaretten haben Sie durchschnittlich pro Tag geraucht?	
<b>21</b>	Rauchen Sie zurzeit etwas anderes als Zigaretten (z.B. Zigarren, Pfeife o. ä.)?	<input type="checkbox"/> 1 Ja <input type="checkbox"/> 2 Nein → <b>22</b>
	In welchem Jahr haben Sie mit dem ...-Rauchen begonnen oder wie alt waren Sie damals? Jahr / damaliges Alter in Jahren	

# Anamnese

Datum \_\_\_\_\_

PNr. : \_\_\_\_\_

<b>22</b>	Haben Sie jemals etwas anderes als Zigaretten geraucht (z.B. Zigarren, Pfeife o. ä.)?	<input type="checkbox"/> 1 Ja <input type="checkbox"/> 2 Nein → <b>23</b>
	In welchem Jahr haben Sie mit dem ...-Rauchen begonnen oder wie alt waren Sie damals? Jahr / damaliges Alter in Jahren	
	Wann haben Sie mit dem ...-Rauchen aufgehört? Jahr / damaliges Alter in Jahren	
<b>23</b>	Wie viel wird in Ihrem Haushalt von anderen geraucht?	<input type="checkbox"/> 1 sehr viel <input type="checkbox"/> 2 viel <input type="checkbox"/> 3 kaum <input type="checkbox"/> 4 gar nicht
<b>24</b>	Wie viel wird von anderen Personen an Ihrem Arbeitsplatz geraucht?	<input type="checkbox"/> 1 sehr viel <input type="checkbox"/> 2 viel <input type="checkbox"/> 3 kaum <input type="checkbox"/> 4 gar nicht <input type="checkbox"/> 5 trifft auf mich nicht zu
<b>25</b>	Ist Ihr Ehepartner oder Partner Raucher?	<input type="checkbox"/> 1 ja <input type="checkbox"/> 2 nein <input type="checkbox"/> 3 trifft auf mich nicht zu
<b>26</b>	Wie viel raucht ihr Ehepartner oder Partner?	<input type="checkbox"/> 1 Mehr als 20 Zigaretten pro Tag <input type="checkbox"/> 2 Weniger als 20 Zigaretten pro Tag
<b>27</b>	Was raucht Ihr Ehepartner oder Partner?	<input type="checkbox"/> 1 Nur Zigaretten <input type="checkbox"/> 2 Außer Zigaretten auch Zigarren, Pfeife o. ä. <input type="checkbox"/> 3 Nur Zigarren, Pfeife o. ä.
<b>28</b>	Wie sind Sie heute angereist?	<input type="checkbox"/> Auto <input type="checkbox"/> U-Bahn <input type="checkbox"/> zu Fuß



CAMPUS INNENSTADT  
 INSTITUT UND POLIKLINIK FÜR  
 ARBEITS-, SOZIAL- U. UMWELTMEDIZIN  
 DIR.: PROF. DR. MED. DENNIS NOWAK



## CAUS

Der folgende Fragebogen soll Ihre Reaktion auf Umweltreize – insbesondere chemische Reize – erfassen.

Bitte kreuzen Sie an, wie sehr die aufgeführten Reaktionsweisen auf Sie zutreffen. Die Skala reicht von 1 „gar nicht zutreffend“, über 2 „wenig zutreffend“, 3 „etwas zutreffend“, 4 „annähernd zutreffend“ bis 5 „sehr zutreffend“.

Bitte lassen Sie keine Frage aus!

	gar nicht zutreffend				sehr zutreffend
	1	2	3	4	5
1. Wenn ich die Farbe in frisch gestrichenen Räumen rieche bekomme ich leicht Atemnot	<input type="checkbox"/>				
2. Sprays und trocknende Lacke verursachen bei mir das Gefühl von Atemnot	<input type="checkbox"/>				
3. Bei geringen Mengen von Rauchabgasen muss ich husteln	<input type="checkbox"/>				
4. Sobald ich Rauchabgase rieche bekomme ich Atembeklemmungen	<input type="checkbox"/>				
5. Bei starkem Lackgeruch bekomme ich Atembeklemmungen	<input type="checkbox"/>				
6. Bei starkem Lack-oder Rauchgeruch kann mir schwindelig werden	<input type="checkbox"/>				
7. Auf Benzinabgase an der Tankstelle reagiere ich empfindlich	<input type="checkbox"/>				
8. Bei Geruch von starken Reinigungsmitteln bekomme ich Atembeschwerden	<input type="checkbox"/>				



CAMPUS INNENSTADT  
 INSTITUT UND POLIKLINIK FÜR  
 ARBEITS-, SOZIAL- U. UMWELTMEDIZIN  
 DIR.: PROF. DR. MED. DENNIS NOWAK



Welche der nachstehenden **Symptome** verspüren Sie **aktuell**?

*(Bitte kreuzen Sie auf der Linie jeweils die Stelle an,  
 die Ihre Einschätzung am besten zum Ausdruck bringt.)*

**1. Trockener Husten**

überhaupt nicht  sehr stark

**2. „Kratzen“ im Hals**

überhaupt nicht  sehr stark

**3. Schluckbeschwerden**

überhaupt nicht  sehr stark

**4. Husten mit Auswurf**

überhaupt nicht  sehr stark

**5. Pfeifendes/Brummendes Atemgeräusch**

überhaupt nicht  sehr stark

**6. Engegefühl in der Brust**

überhaupt nicht  sehr stark

**7. Atemnot**

überhaupt nicht  sehr stark

**8. Niesreiz**

überhaupt nicht  sehr stark

**9. Fließschnupfen**

überhaupt nicht  sehr stark



CAMPUS INNENSTADT  
 INSTITUT UND POLIKLINIK FÜR  
 ARBEITS-, SOZIAL- U. UMWELTMEDIZIN  
 DIR.: PROF. DR. MED. DENNIS NOWAK



**10. Stockschnupfen (verstopfte Nase)**

überhaupt nicht	-----	sehr stark
--------------------	-------	---------------

**11. Brennen in der Nase**

überhaupt nicht	-----	sehr stark
--------------------	-------	---------------

**12. Jucken in der Nase**

überhaupt nicht	-----	sehr stark
--------------------	-------	---------------

**13. Kopfschmerzen**

überhaupt nicht	-----	sehr stark
--------------------	-------	---------------

**14. Schwindelgefühl**

überhaupt nicht	-----	sehr stark
--------------------	-------	---------------

**15. Kreislaufstörung**

überhaupt nicht	-----	sehr stark
--------------------	-------	---------------

**16. Übelkeit**

überhaupt nicht	-----	sehr stark
--------------------	-------	---------------

**17. Brennen der Augen**

überhaupt nicht	-----	sehr stark
--------------------	-------	---------------

**18. Trockenheit der Augen**

überhaupt nicht	-----	sehr stark
--------------------	-------	---------------

**19. „Müde“ Augen**

überhaupt nicht	-----	sehr stark
--------------------	-------	---------------



**KLINIKUM**  
DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

CAMPUS INNENSTADT  
INSTITUT UND POLIKLINIK FÜR  
ARBEITS-, SOZIAL- U. UMWELTMEDIZIN  
DIR.: PROF. DR. MED. DENNIS NOWAK



**20. Jucken der Augen**

überhaupt nicht  sehr stark

**21. Juckreiz der Haut**

überhaupt nicht  sehr stark

**22. Hautausschlag**

überhaupt nicht  sehr stark



CAMPUS INNENSTADT  
 INSTITUT UND POLIKLINIK FÜR  
 ARBEITS-, SOZIAL- U. UMWELTMEDIZIN  
 DIR.: PROF. DR. MED. DENNIS NOWAK



Wie war Ihr **Wohlbefinden** in der Kammer?

*(Bitte kreuzen Sie auf der Linie jeweils die Stelle an,  
 die Ihre Einschätzung am besten zum Ausdruck bringt.)*

äußerst schlecht |-----| äußerst gut

Wie **stark** haben Sie den **Geruch** in der Kammer wahrgenommen?

*(Bitte kreuzen Sie auf der Linie jeweils die Stelle an,  
 die Ihre Einschätzung am besten zum Ausdruck bringt.)*

gar nicht |-----| äußerst stark

Wie sehr haben Sie sich durch den **Geruch** in der Kammer **belästigt** gefühlt?

*(Bitte kreuzen Sie auf der Linie jeweils die Stelle an,  
 die Ihre Einschätzung am besten zum Ausdruck bringt.)*

gar nicht |-----| äußerst stark

Wie sehr haben Sie sich durch die **Druckaktivität** in der Kammer insgesamt **beeinträchtigt** gefühlt?

*(Bitte kreuzen Sie auf der Linie jeweils die Stelle an,  
 die Ihre Einschätzung am besten zum Ausdruck bringt.)*

gar nicht |-----| äußerst stark



### A.3. Publikation

Eine Publikation zu dieser Studie wurde am 20. Dezember 2017 beim Journal INDOOR AIR eingereicht und am 25. Februar 2018 angenommen.

**Titel** „Acute health effects of desktop 3D printing (FDM) using ABS and PLA materials: an experimental exposure study in human volunteers

**Autoren** Gümperlein Ina, Fischer Elke, Dietrich-Gümperlein Gisela, Karrasch Stefan, Nowak Dennis, Jörres Rudolf A. und Schierl Rudolf

**Journal** Indoor Air

**Copyright** ©2018 John Wiley & Sons A/S.

**Herausgeber** John Wiley & Sons Ltd

**DOI** 10.1111/ina.12458

**Link** <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/ina.12458>

Die Lizenz, Abbildungen aus der Publikation abzudrucken, liegt vor.

# Danksagung

Mein besonderer Dank gilt

**Herrn Prof. Dr. Nowak** für die Möglichkeit meine Promotion am von ihm geführten Institut zu verfassen. Die ausgeprägte gegenseitige Hilfsbereitschaft am Institut hat meine Zeit hier sehr angenehm gemacht.

**Meinem Doktorvater Herrn Priv.-Doz. Dr. Rudolf Jörres**, für seine umfassende Betreuung insbesondere bei statistischen Fragen und vielen interessanten und lehrreichen Gesprächen. Wissbegierde meinerseits und ein großes Allgemeinwissen Ihrerseits hat sich prima ergänzt. Ebenfalls vielen Dank für den großzügigen Verleih diverser (Physik-)Bücher.

**Meinem Betreuer und langjährigen Chef Herrn Dr. Rudolf Schierl**, der mir diese Arbeit ermöglicht hat und dessen humorvolle Art und hervorragende Führung der ganzen Abteilung und mir in guter Erinnerung bleiben wird. Für den wohl verdienten Ruhestand wünsche ich alles Gute und viel Spaß an neuen und alten Hobbys.

**Dr. Stefan Karrasch** für seine Einführung in die Klimakammer samt Messgeräten und vielen nützigen Tipps und Tricks.

**Meiner langjährigen Kollegin Elke Fischer**, für die Entwicklungsarbeit der PGF-Methode. Du hast mir immer viel zugetraut und auf meine Meinung Wert gelegt. Danke für die schöne Zeit im Labor mit dir.

**Der gesamten Arbeitsgruppe Analytik** für eine tolle Arbeitsatmosphäre mit schönen Ausflügen und Gesprächen.

**Den Mitarbeitern** vom Landesamt für Lebensmittelsicherheit LGL, sowie den Firmen TSI und ProteinSimple für die freundliche Zusammenarbeit inklusive Geräteverleih, Messmöglichkeiten und Hilfestellungen.

**Meinen Freunden** Tobi und Bässem für eure Unterstützung bei Probemessungen am privaten 3D-Drucker, welche erst den Anstoß zu dieser Studie gaben.

**Allen Probanden** für ihren Einsatz und ihr Durchhaltevermögen.

**Meinen Eltern**, insbesondere meiner Mama und Expertin für ELISA Messungen, für eure immerwährende Unterstützung.

**Meinem Freund Jakob**, dessen selbstgeschriebenes Programm zur Datenerfassung- und Analyse der NO-Werte diese Arbeit maßgeblich weitergebracht hat, und ohne dessen stete Unterstützung, Geduld und Zuversicht ich oft verloren wäre.



# Eidesstattliche Versicherung

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

“Mögliche gesundheitliche Effekte inhalierter Nanopartikel -  
Expositionsstudie an Gesunden mittels Desktop-3D-Drucker im  
Schichtdruckverfahren.”

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, den 13.02.2019

---

*Ina Gümperlein*