



Institut und Poliklinik für Arbeits- und Sozialmedizin	
Eing.: 1. 9. NOV. 1984	
	K. Rö

**Vith International
neumoconiosis Conference 1983**

**VI. Internationale
neumokoniose-Konferenz 1983**

Bochum - Federal Republic of Germany

Neller et al.

Volume 2

Organised by
Veranstalter

bergbau-
aufsessenschaft

International
Labour Office

Fibrogenität ultramikroskopischer Chrysotil-Asbest-Fasern

von

W. Weller, W. Kißler, K.-H. Friedrichs, K. Morgenroth

Einleitung

Zahlreiche Untersuchungen haben ergeben, daß Chrysotil in histologischen Präparaten lichtmikroskopisch nicht oder kaum nachweisbar ist (DAVIS, 1970; GROSS et al., 1971; LANGER und POOLEY, 1973; LANGER et al., 1971; PLANTEYDT, 1973; TIMBRELL, 1973; WELLER, 1978). Als Ursache wird die chemische und physikalische Veränderung von Chrysotil angesehen (LANGER et al., 1971; MORGAN und CRALLEY, 1973). Chrysotil kann mit genügender Sicherheit offenbar nur elektronenoptisch im Gewebe nachgewiesen werden (MUELLER et al., 1975; PLANTEYDT, 1973). Auch im Lungenaufschluß ist der Chrysotilnachweis schwierig. HEIDERMANN et al. (1976) konnten in 17 Lungenstaubproben keinen Chrysotil-Asbest, in 3 Fällen jedoch Amphibol-Asbest nachweisen. Zu ähnlichen Ergebnissen kommen auch LANGER et al. (1971). Neben einem Faserverlust beim Gewebeaufschluß können beim Chrysotil infolge Zerfaserung derartig dünne Fasern entstehen, die lichtmikroskopisch dann nicht mehr nachweisbar sind.

Neben dem elektronenoptischen Fasernachweis war die Erscheinungsform der Fasern, der Ort der Deposition sowie die Geschwindigkeit der Elimination Gegenstand der Untersuchung. Bei der Auswertung ergaben sich interessante Hinweise zur Fibrogenität von Chrysotil-Asbestfasern, über die nachstehend berichtet werden soll.

Methodik

Zum Versuch wurden weibliche SPF-Wistar-/TNO-Ratten, Zucht Winkelmann/Paderborn, im Alter von 4 Monaten verwendet.

Bei dem Asbeststaub handelt es sich um den UICC-Standard-Staub Chrysotil B. Der Staub wurde ohne Hilfsmittel in physiologischer NaCl-Lösung suspendiert. Jedes Tier erhielt eine intraperitoneale Injektion von 1 ml mit 10 mg Chrysotil B. Die Untersuchung nach der Asbest-Injektion erfolgte nach 1, 3, 7, 14 und 28 Tagen sowie nach 2 und 3 Monaten. Zur Untersuchung wurden die Tiere mit Äther betäubt, entblutet und nach Bestimmung des Körpergewichtes folgende Organe entnommen und gewogen: Netz, außerhalb des Netzes gelegene Veränderungen, Lungenlymphknoten und craniale Mesenteriallymphknoten. Diese Organe wurden histologisch und elektronenmikroskopisch untersucht.

♀ Ratten
10 mg/kg
↓
i.p.

Bei der lichtmikroskopischen Untersuchung fanden sich 1 Tag nach der Chrysotil-Injektion im Netz am Rand der eben erkennbaren Asbestfasern Infiltrate aus Lymphozyten und Plasmazellen, zwischen denen in den folgenden Tagen zunehmend Makrophagen auftraten. Nach 7 Tagen bekamen diese Herde auch durch Riesenzellen vom Fremdkörpertyp im Infiltrat granulomartigen Charakter. Gleichzeitig traten zu diesem Zeitpunkt vermehrt Fibroblasten zwischen den Makrophagen auf und erste Kollagenfasern wurden sichtbar. Nach 14 Tagen bildeten diese Kollagenfasern einen deutlichen fibrösen Randsaum, der sich später zu Narbenfeldern ausweitete. Die Chrysotil-Asbestfasern im Herdbereich waren lichtmikroskopisch nur in den ersten 14 Tagen erkennbar. Später waren diese Fasern im Lichtmikroskop nicht mehr nachweisbar, insbesondere konnten nie interzelluläre Chrysotil-Asbestfasern lichtoptisch identifiziert werden, auch nicht in den Fremdkörper-Riesenzellen.

Ein Beispiel für den Entwicklungszustand von Netzgranulomen nach 7 Tagen Versuchszeit ist in Abbildung 1a dargestellt. Um den sicheren Nachweis zu führen, daß es sich bei dem fädigen Material in den zentralen Arealen (s. Abb. 1a) um Asbest handelt, wurden aus diesen Gebieten elektronenmikroskopische Bilder erstellt (Abb. 1b). Außer diesem Nachweis konnte zusätzlich durch die energiedispersive Elementanalyse bestätigt werden, daß es sich um Chrysotil-Asbestfasern handelt.

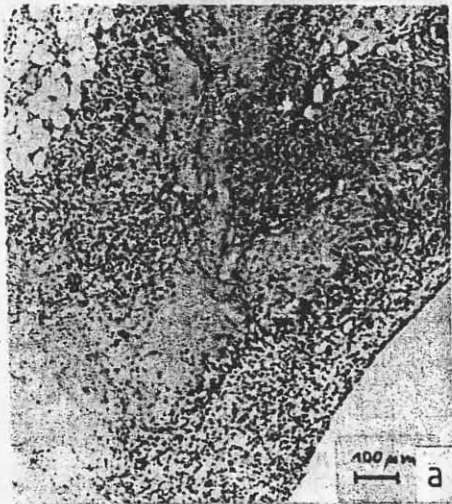


Abb. 1a: Netzgranulom, 7 Tage nach intraperitonealer Injektion von 10 mg Chrysotil-B. HE-Färbung, mikroskopische Vergrößerung 10fach.

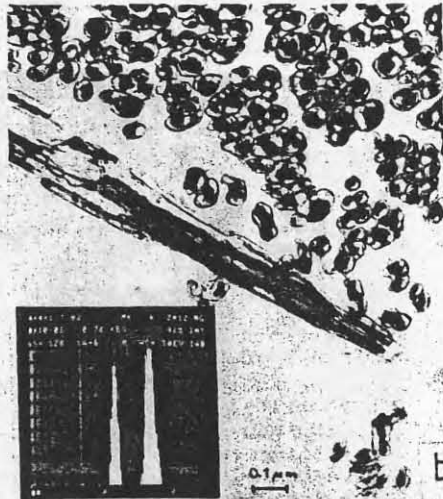


Abb. 1b: Ultradünnschnitt aus den zentralen, zellfreien Arealen des in Abbildung 1a dargestellten Granuloms.

den elektronenmikroskopischen Untersuchungen konnten schon 1 Tag nach Asbeststaubinjektion in Netz und Lymphknoten kleinste Fasern nachgewiesen werden. Die Anzahl der Fasern in den Zellen stieg bis zum 14. Tag nach Injektion an. Ein typisches Beispiel für Art und Umfang der intrazellulären Fasereinlagerung zeigt die Abbildung 2. Dabei fällt auf, daß diese Fasern offenbar frei im Zellraum liegen, da eine Lysosommembran nicht nachzuweisen ist.

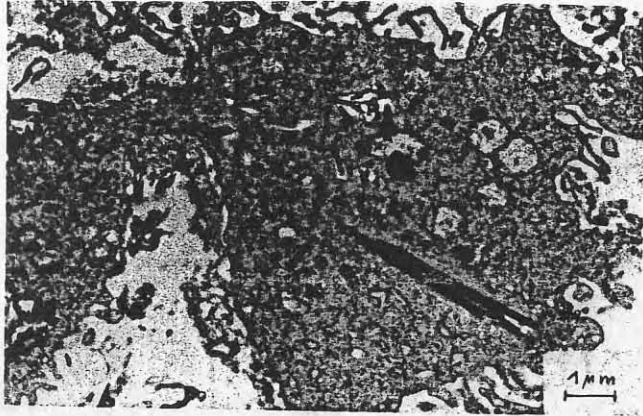


Abb. 2: Makrophage aus dem Netz mit zahlreichen Fasern unterschiedlicher Größe. 7 Tage nach intraperitonealer Injektion von 10 mg Chrysotil-B.

Nach 14 Tagen Versuchszeit zeigen die elektronenmikroskopischen Bilder, daß die Makrophagen stark mit Asbestfasern beladen sind, daneben aber bereits in großem Umfang eine Bindegewebsbildung eingesetzt hat (Abb. 3).

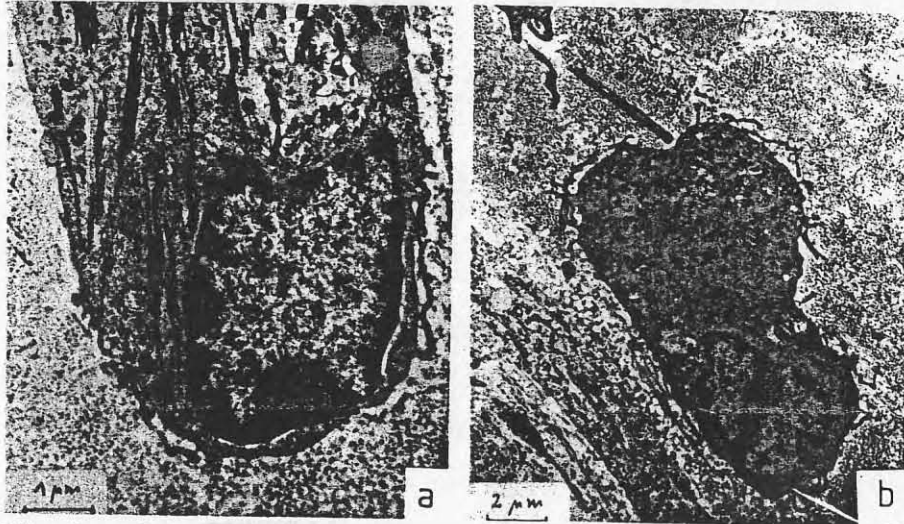


Abb. 3a und b: Makrophagen aus dem Netz, 14 Tage nach intraperitonealer Injektion von 10 mg Chrysotil-B.

In dem in Abbildung 3a dargestellten Makrophagen liegen die kurzen Asbestfasern sehr wahrscheinlich in Phagolysosomen, während die relativ langen Fasern offenbar frei im Zellkörper liegen. Aus der Abbildung 3b geht hervor, daß die Bindegewebsbildung möglicherweise induktiv angeregt wird, da die Asbestfasern ausschließlich intrazellulär abgelagert sind.

In diesem Zusammenhang stellt sich die Frage nach der Ablagerung langer bzw. relativ langer Asbestfasern. Einige der beobachteten Möglichkeiten sind in Abbildung 4 dargestellt.

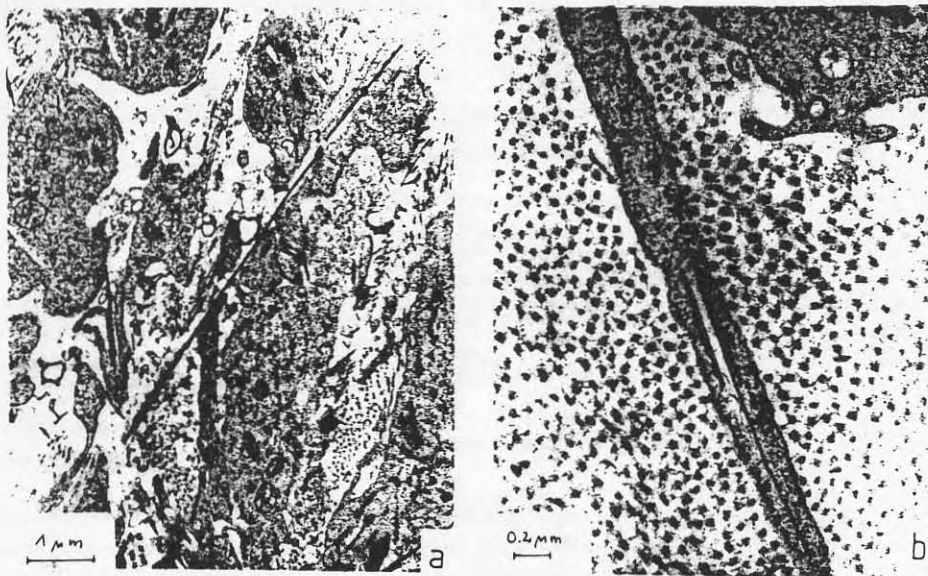


Abb. 4a und b: Ultradünnschnitte von Netzgewebe, 14 Tage nach intraperitonealer Injektion von 10 mg Chrysotil-B.

In Abbildung 4a liegt die Faser eindeutig extrazellulär. Relativ lange Fasern können auch in Zellfortsätzen gespeichert werden, wie aus Abbildung 4b hervorgeht. Die natürliche Lage des Zellausläufers ist in Abbildung 3b zu sehen.

In über 100 elektronenoptischen Aufnahmen zu allen Untersuchungsterminen konnte in keinem Fall eine Durchspießung eines Makrophagen bzw. eine wegen der Faserlänge unvollständige Ingestion durch einen Makrophagen festgestellt werden.

1984

Es hat sich gezeigt, daß schon 1 Tag nach der Injektion Asbestfasern in äußerst geringen Längen- und Durchmessermaßen intrazellulär auftreten. Eine plausible Erklärung für diese schnelle und wirksame Faseraufspaltung kann aus unseren Befunden nicht abgeleitet werden. Auch die Elimination in relativ weit entfernte Gebiete geschieht außerordentlich schnell, wie der Fasernachweis in den Lungenlymphknoten zeigt. Längere Fasern, die einen mittleren Zelldurchmesser überschreiten, werden offenbar nicht phagozytiert. Sogenannte Durchspießungen von Zellen konnten nicht beobachtet werden. Aus der Größe der intra- und interzellulär gefundenen Chrysotilfasern ergibt sich, daß diese nur mit elektronenoptischen Methoden nachweisbar waren. Daraus folgt, daß die Anwendung lichtoptischer Nachweismethoden nutzlos ist.

Asbestkörper?

Chrys

Ein Befund, der aus allgemeinen Gründen außerordentlich interessant ist, betrifft die Bindegewebsbildung. In fast allen Fällen entstand der Eindruck, daß die Anregung zur Bindegewebsbildung induktiv von intrazellulär gespeicherten Asbestfasern aus erfolgte bzw. von entsprechenden Zellinhaltsstoffen. Dabei handelt es sich vielfach um Fasern, die nur 0,5 µm lang sind bei einem Durchmesser von etwa 0,05 µm.

kf

Elementarfasern

Zusammenfassung

In Deutschland wird zu 90% Chrysotilasbest verarbeitet. Dieser ist im Gegensatz zu den Amphibolasbesten lichtmikroskopisch häufig im Gewebe nicht nachweisbar, da eine rasche Aufspaltung in feinste Faserfibrillen erfolgt. An Sprague-Dawley-Ratten wurde ein Intra-peritonealtest mit einer 10 mg Chrysotil B-Injektion durchgeführt, um Ausmaß und Zeitablauf des "Verschwindens" von Chrysotilasbestfasern zu untersuchen, sowie Hinweise auf deren Verbleib und ihre Fibrogenität zu bekommen.

Schon 7 Tage nach der Applikation konnten lymphogen verschleppte Chrysotilfasern elektronenmikroskopisch in lichtmikroskopisch unauffälligen Mesenterial- und Lungenlymphknoten nachgewiesen werden. Auch am Applikationsort selbst, dem Netz, blieben die Fasern nur in den ersten 14 Tagen lichtmikroskopisch erkennbar. Danach fand man sie elektronenmikroskopisch in feinste Fibrillen aufgesplittert. Diese lagen vielfach in Phagolysosomen von Peritonealmakrophagen, in deren Bereich eine zunehmende Vernarbung auftrat. Die Fibrogenität "verschwindener", ultramikroskopischer Chrysotil-Asbestfasern konnte nachgewiesen werden.

Summary

In the Federal Republic of Germany about 90 per cent of the used asbestos is Chrysotile. Chrysotile in contrast to the amphibole asbestos can not be demonstrated in tissue by means of light-microscopy, because there is a splitting into finest fiber fibrillae. In an intraperitoneal test with Sprague-Dawley-rats the animals got an injection of 10 mg Chrysotile-B in order to observe extent and time factor of the "disappearance" of Chrysotile fibers and to get indication to location and fibrogenic action of these "disappeared" Chrysotile fibers.

Already seven days after injection Chrysotile fibers could be observed in lung lymph nodes as well as in mesenteric lymph nodes by means of electron microscopy in areas which were normal by light microscopy. Also at the place of injection, in the omentum, fibers could be identified by means of light microscopy only within the first two weeks. Thereafter they could be found only by electron microscopy, splitted into finest fibrillae. These fibrillae were frequently within phagolysosomes of peritoneal macrophages. Around these macrophages an increasing fibrosis could be observed.

Anschrift des Verfassers: Professor Dr. med. vet. W. Weller
Silikose-Forschungsinstitut der Bergbau-Berufsgenossenschaft, Hunscheidtstrasse 12,
4630 Bochum 1, W.-Germany

Literatur
=====

Davis, J.M.G.: The long-term fibrogenic effects of chrysotil and crocidolite asbestos dust injected into the pleural cavity of experimental animals. Brit.J.Exp.Path. 51, 617-627 (1970)

Gross, P., L.J. Cralley, J.M.G. Davis, R.T.B. de Treville, J. Tuma: A quantitative study of fibrous dust in the lungs of city dwellers. In: Inhaled Particles III, Vol. 2, 671-681, Surrey, England, 1971

Heidermanns, G., G. Riediger, A. Schütz: Asbestbestimmung in industriellen Feinstäuben und in Lungenstäuben. In: Asbest und Asbestose, Hefte z.Unfallheilkunde 126, 574-584, Springer, Berlin,Heidelberg, 1976

Langer, A.M., V. Baden, E.C. Hammond, I.J. Selikoff: Inorganic fibres, including chrysotile in lungs at autopsy; Preliminary report. In: Inhaled Particles III, Vol. 2, 683-694, Surrey, England, 1971

Langer, A.M., F.D. Pooley: Identification of single asbestos fibres in human tissues. In: Biological Effects of Asbestos. Int.Ag.Res.Cancer, p. 119-125, Lyon 1973

Morgan, A., L.J. Cralley: Chemical characteristics of asbestos and associated trace elements. In: Biological Effects of Asbestos. Int.Ag.Res.Cancer, p. 113-118, Lyon 1973

Mueller, P.K., A.E. Alcocer, R.L. Stanley, F.R. Smith: Asbestos Fiber Atlas. Environm.Protection Technology Series, Washington D.C. 1975

Planteydt, H.R.:Assessments of methods used in the studies of the biological effects of asbestos. 2. Pathology. Discussion summary. In: Biological Effects of Asbestos. Int.Ag. Res.Cancer, p. 80-81, Lyon 1973

Timbrell, V.: Discussion summary. In: Biological Effects of Asbestos. Int.Ag.Res.Cancer, p.131-132, Lyon 1973

Weller, W.: Untersuchungen verschiedener Aufschlußmethoden zum Nachweis von Asbest im Organmaterial. Staub-Reinhaltung Luft 38, Nr. 12, 481-485 (1978)