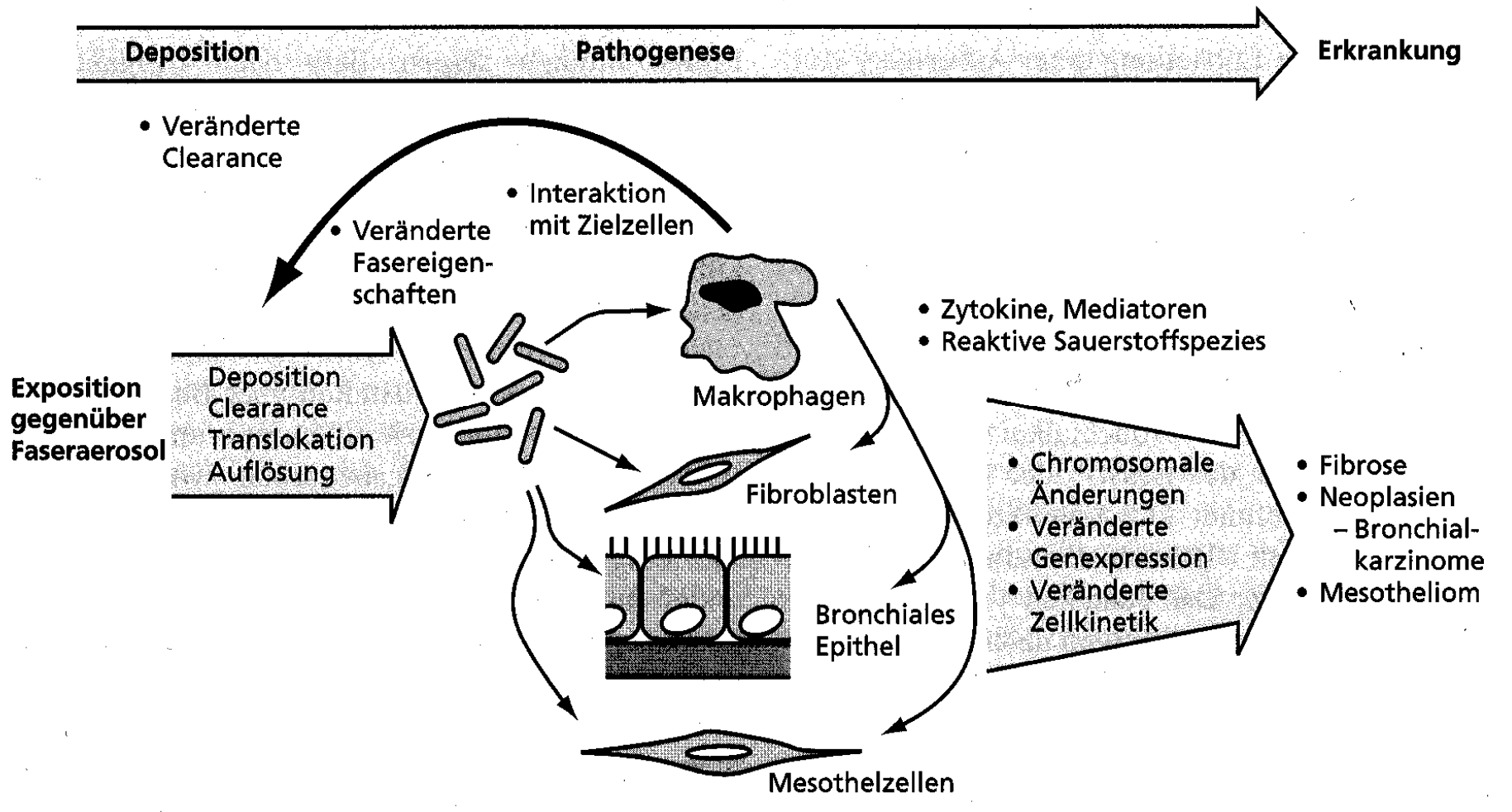


Toxikologie von Faserstäuben aus Hochtemperaturfasern

H. Muhle

Fraunhofer Institut für Toxikologie
und Experimentelle Medizin,
Hannover, Germany



Toxikologie von Faserstäuben aus Hochtemperaturfasern

Gliederung

- **Übersicht zur Fasertoxikologie**
- **Definitionen zur Fasergröße**
- **Methoden zur Prüfung der Toxikologie von Fasern**
 - **Biopersistenz**
Einfluss Faserdimensionen
 - **Kanzerogenitätsprüfungen**
Asbest als Referenzmaterial
Vergleich von inhalativer und intraperitonealer Injektion
- **Diskussion**

Toxic effects of fibres induced by the 3 "D"

- **Dimension**
- **Durability**
- **Dose**

Teststrategien für die Untersuchung der Toxizität neu entwickelter Fasern

- Präparation einer “rat respirable fibre”
oder "arbeitsplatztypische Faser" ?
- Welche “kritische Dimensionen” sollten für die Clearancekinetik verwendet werden?
(Faserlänge > 20 µm oder > 5 µm?)
- Wie sollte die Biopersistenz bestimmt werden?
(5 Tage Inhalation, 90 Tage Inhalation,
intratracheale Instillation)?

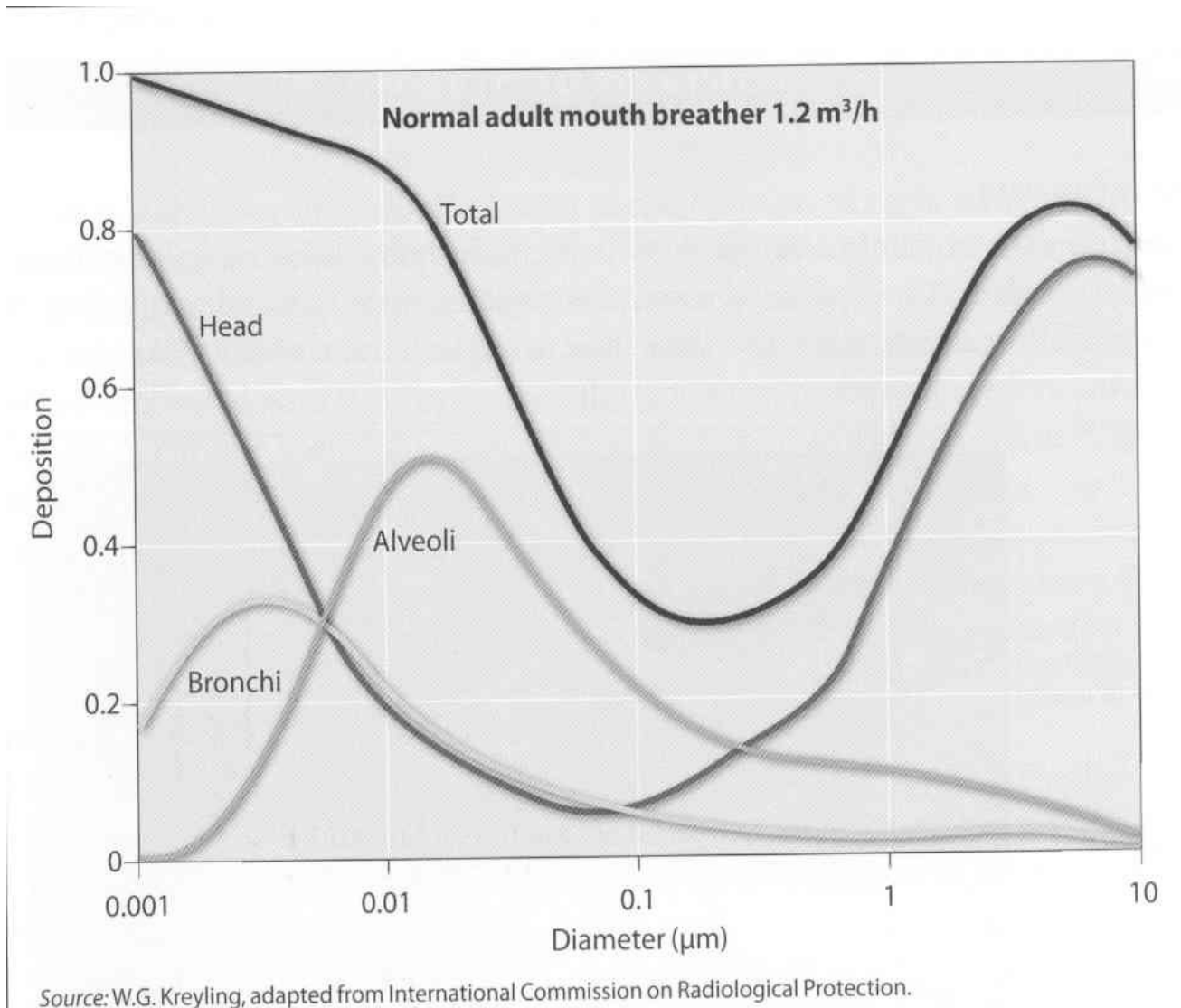


Faserstaub: Definitionen

- **Definition der „WHO“ Faser:**
- **Faserlänge FL > 5 µm**
- **Faserdicke FD < 3 µm**
- **Verhältnis von FL zu FD $\geq 3/1$**

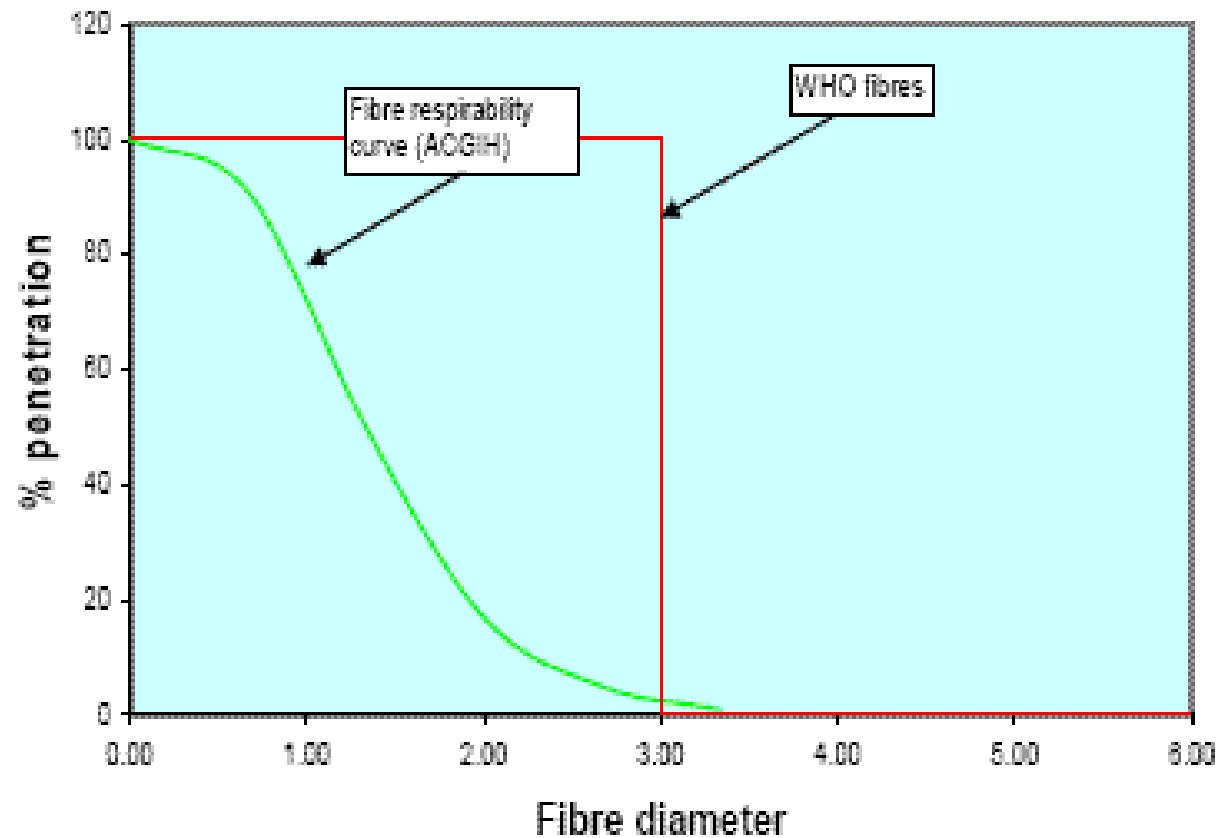
- **Biopersistenzuntersuchungen (EU Protokoll): FL > 20 µm**

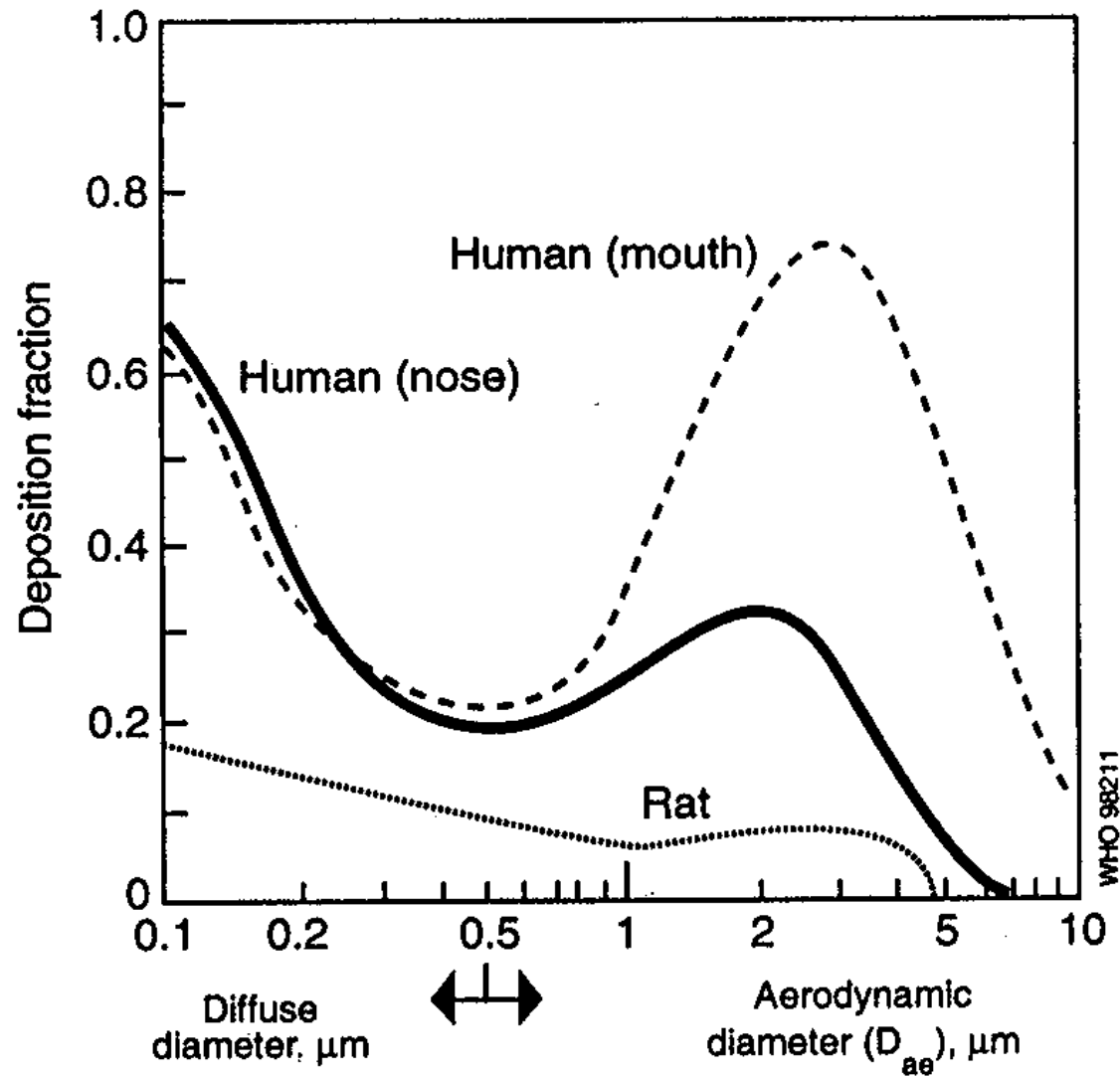
- **Toxikologie: nicht genau bekannt, ab welcher Faserlänge eine krebserzeugende Wirkung zu erwarten ist**



Partikeldeposition im Respirationstrakt des Menschen in Abhängigkeit vom Durchmesser

WHO and respirable fibre comparison





Pulmonal Deposition of Particles in Rats and Humans

Fasertyp	Durchmesser [μm]		Länge [μm]	
	Arbeitsplatz	Experiment	Arbeitsplatz	Experiment
Krokydolith (SA)	0,075 - 0,12 ^a	0,19 ^a	0,9 - 1,7 ^a	1,8 ^a
Glasmikro	0,18 ^a	0,14 ^a	6,8 ^a	2,3 ^a
Glaswolle	0,75 - 1,9 ^b	0,77 ^a	9,2 - 30 ^b	14,6 ^a
Steinwolle	1,2 - 1,9 ^b	0,84 ^a	12 - 22 ^b	16,9 ^a
RCF	0,84 - 1,2 ^b	0,47 ^a	11 - 19 ^b	16,4 ^a
MMVF, lose, Binder	1,0 - 2,0 ^b		30 - 50 ^b	
MMVF, lose, o.B.	0,6 ^b		14 - 15 ^b	
MMVF-Matte	0,9 - 1,3 ^b		22 - 37 ^b	

Vergleich der Faserdimensionen in der Luft von Arbeitsplätzen mit den im Intraperitoneal-Experiment geprüften Faserdimensionen. a: Medianwert, b: geometrischer Mittelwert



Biopersistenz / Kanzerogenitätstest bei Polykristallinen Wollen (PCW)

**Biopersistenz von Faserstäuben aus PCW sind
bisher nicht untersucht worden.**

**Schwierigkeit: Ratteninhalierbare oder
arbeitsplatztypisches Faserstaubpräparat
herzustellen**

Biopersistence of a fibre

Retained Dose = Deposited Dose – Amount Cleared
(Retention = Deposition – Clearance)

Physiological clearance processes of deposited fibres

mucociliary movement (*nose; tracheobronchial region*)

alveolar macrophages (*size limitation*)

interstitial translocation (*pleura*)

lymphatic clearance (*size limitation*)

Physiochemical processes

leaching

dissolution

breakage

Together these processes define the biopersistence of a fibre

(According to ILSI Working Group 2005)



T1/2 i.tr. (VB)

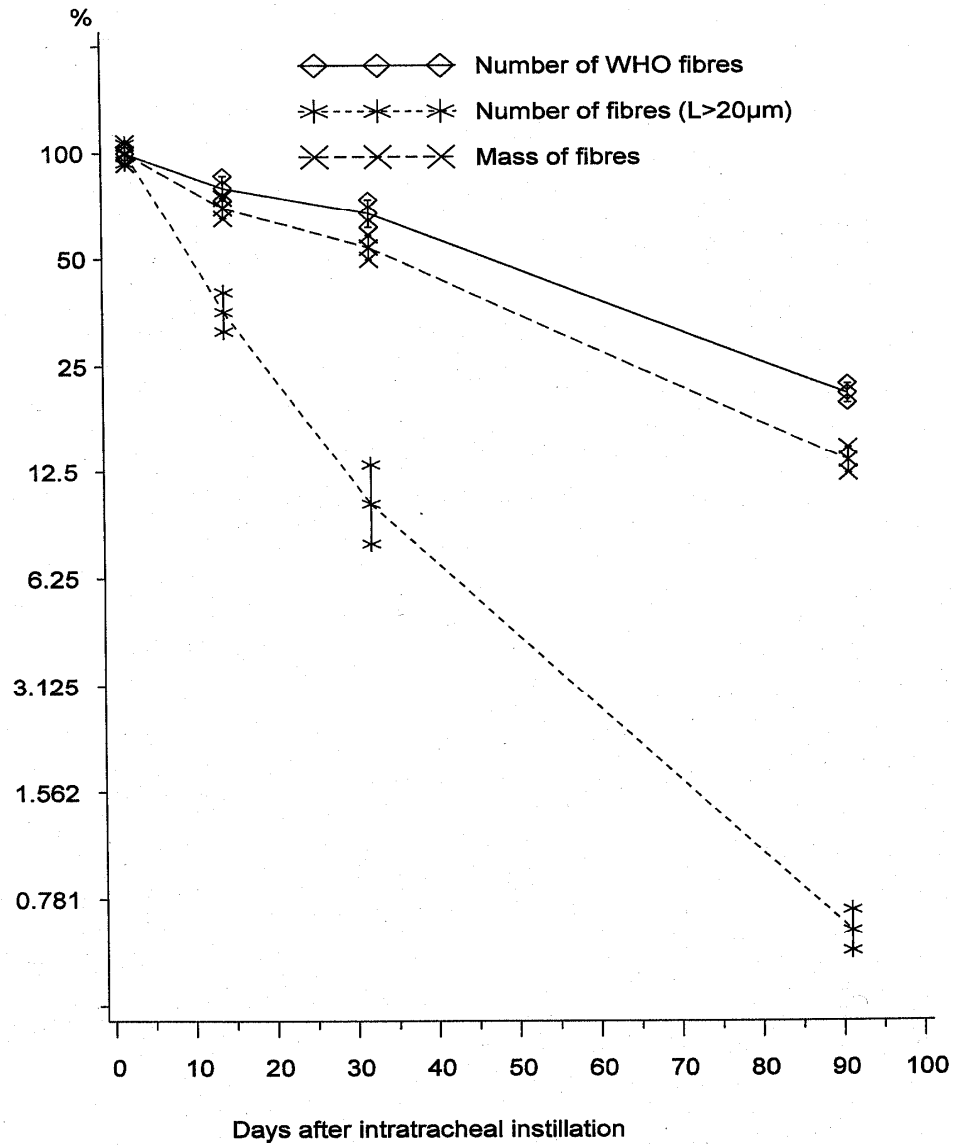
T1/2 inh (VB)

Fasertyp	Gruppe	TD ₂₅	WHO	L >20	WHO	L > 20
RCF1	A	0,02	296 (245-347)	233 (193-273)	104 (95-115)	87 (80-94)
M-475	B	0,45	-	-	178 (145-210)	140 (116-163)
MMVF21	C	0,04	276 (201-351)	184 (150-217)	92/110 (62-125)	55/92 (43-107)
M-Stein	C	0,3	122 (117-126)	78 (70-86)	-	-
MMVF-11	C	0,3	155 (132-178)	137 (65-209)	61 (15-108)	48 (7-88)
MMVF-22	D	1,0	77 (71-83)	44 (38-50)	62 (56-68)	30 (-13-72)
B-01/0,9	D	12,5	18 (13-23)	5 (3-8)	71 (-120-260)	36 (-37-109)

Tabelle 5: TD₂₅-Werte und zugehörige intratracheale und inhalative Halbwertzeiten i Tagen mit 95 % Vertrauensbereich (VB) (Aus Begründung TRGS 906, Anorg. Faserstäube)



Lungenclearance einer Alkali- Erdalkali-Wolle nach intratrachealer Instillation



Unterschied zwischen Biobeständigkeit und Biopersistenz von mineralischen Fasern

- Die Biobeständigkeit ergibt sich aus der Auflösungs- und Zerfallsgeschwindigkeit in der Lunge. Es wird davon ausgegangen, dass sie in der Lunge von Ratte und Mensch gleich ist.
- Biopersistenz: Eigenschaft einer Faser in der Lunge zu verbleiben
- Zusätzlich zur Biolöslichkeit ist der Abtransport intakter Fasern aus der Lunge wesentlich
- Unterschiede zwischen Ratte und Mensch.



Unterschiede der Faserpersistenzbestimmung zwischen Deutschland und der EU

Verwendung gleicher Testmodelle, jedoch einige Unterschiede bei der Bewertung

Parameter	Deutschland	EU
Faserapplikation	Intratracheal (2 mg)	Intratracheal Inhalativ
Auswertung	Faserlänge > 5µm	> 20µm

Kurvenanpassung an Exponentialfunktion mit einem Exponenten, wenn > 80% der Varianz damit erklärt werden kann.

Gewichtete Halbwertszeit bei 2-phasiger Kinetik (Inhalation)

Halbwertszeiten der Faserelimination aus früheren Prüfungen (i.tr. Inst.)

Material	Dosis [mg]	Halbwertszeit in Tagen berechnet aus			
		Faserzahl Mittel (95%-VB)	WHO-Faserzahl Mittel (95%-VB)	Faserzahl (l > 20 µm) Mittel (95%-VB)	Fasermasse Mittel (95%-VB)
MMVF 11	2	217 (186 - 258)	199 (172 - 235)	107 (93 - 126)	126 (113 - 144)
Glaswolle TL	2	199 (171 - 238)	188 (163 - 220)	66 (55 - 81)	113 (104 - 125)
X 607	2	46 (41 - 53)	46 (40 - 54)	39 (33 - 46)	49 (40 - 63)
M-Steinwolle	1	122 (113 - 133)	116 (108 - 126)	82 (75 - 92)	106 (96 - 118)
MMVF 22	1	82 (74 - 92)	81 (75 - 89)	66 (56 - 81)	60 (54 - 69)
RCF 1	2	341 (291 - 413)	343 (291 - 416)	300 (256 - 363)	270 (235 - 317)
B-01-0.9	0,35	33 (28 - 41)	32 (26 - 45)	9 (7 - 11)	29 (24 - 37)
MMVF 21	2	325 (257 - 443)	326 (266 - 421)	196 (164 - 243)	253 (206 - 327)
HT 3	2	110 (118 - 145)	110 (101 - 120)	109 (98 - 122)	147 (132 - 165)
Exp 3	2	33 (30 - 37)	32 (29 - 36)	22 (18 - 28)	31 (28 - 36)
Wollastonit	2	17 (15 - 18)	18 (16 - 22)		

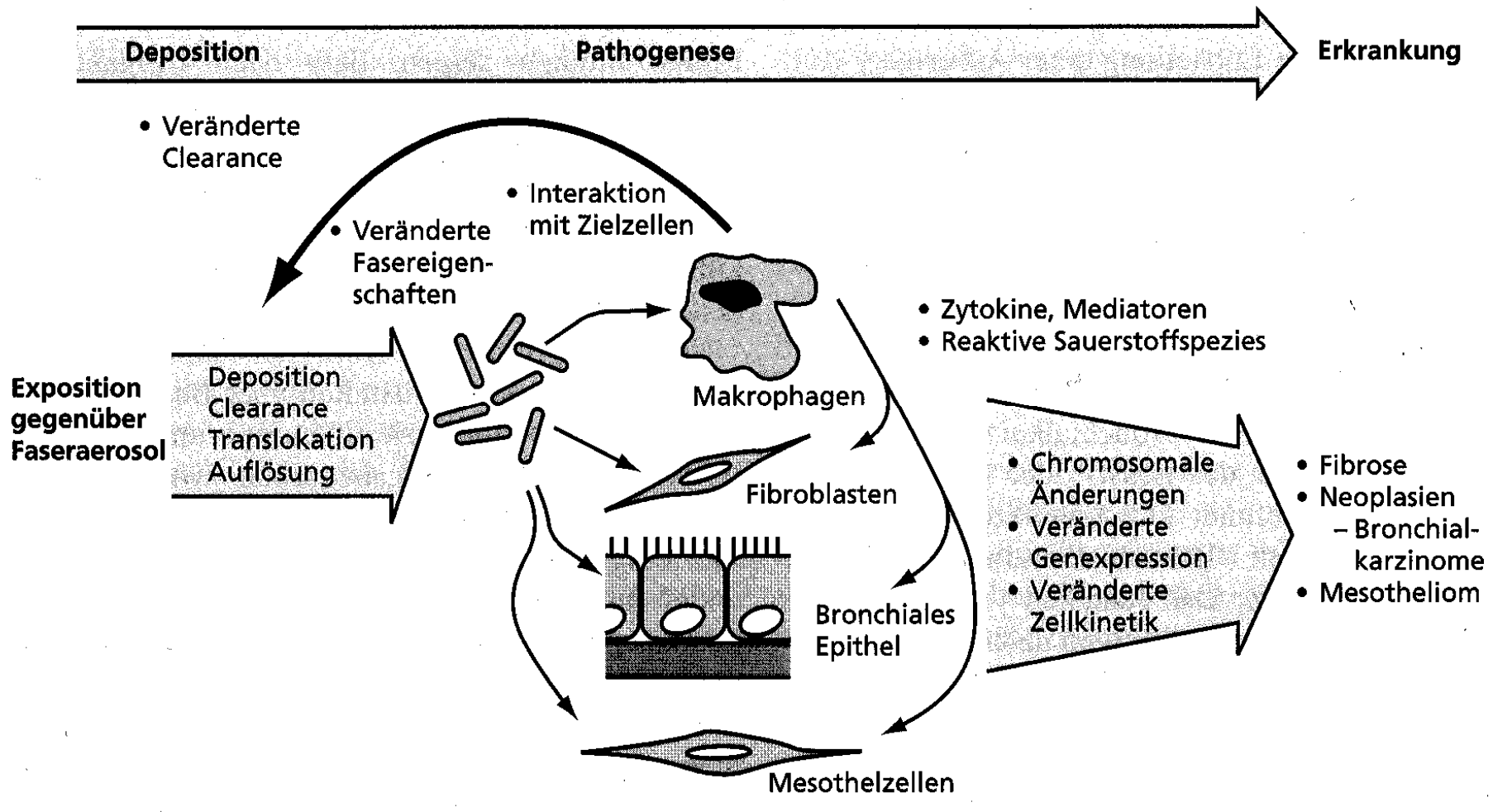


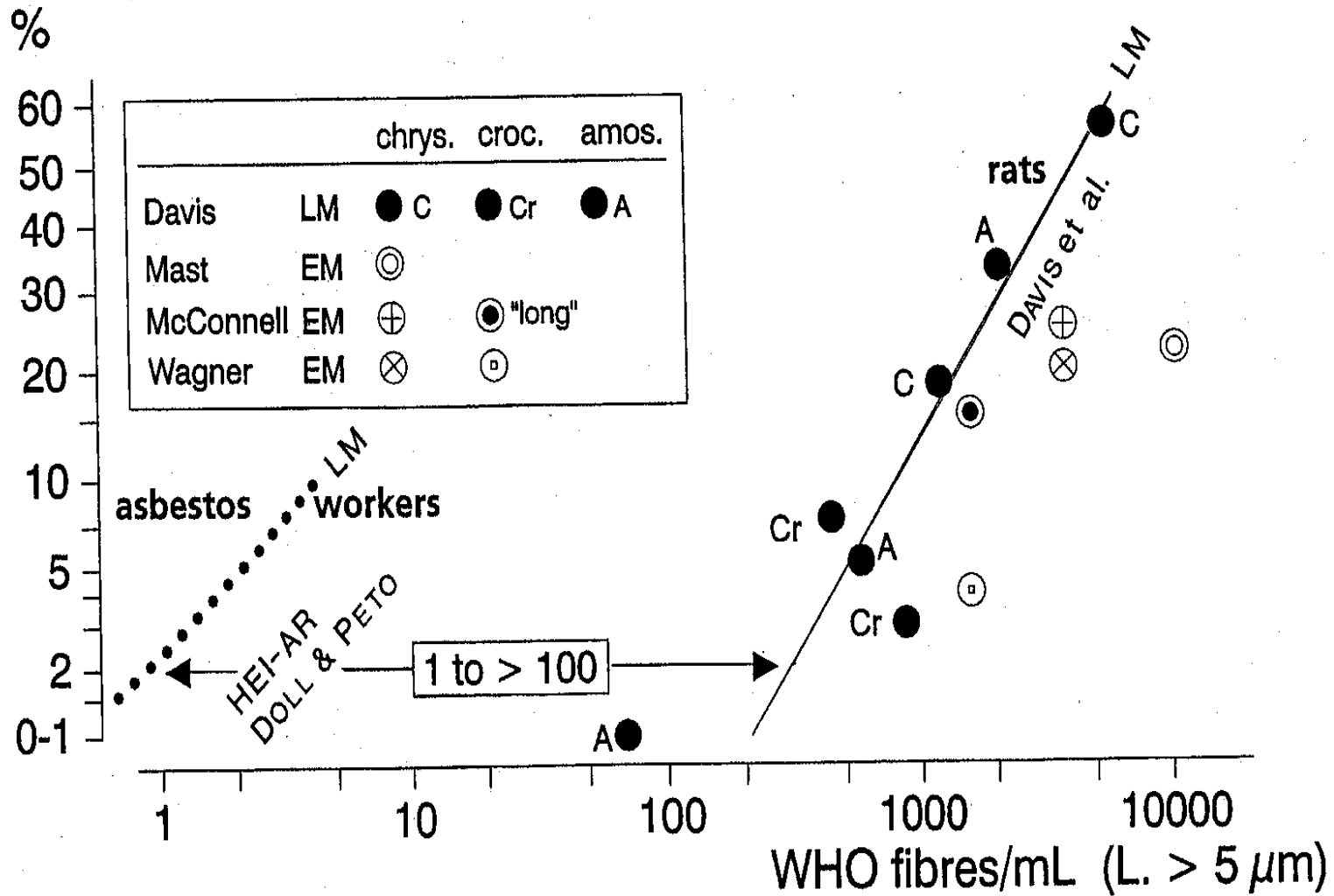
Toxikokinetik von Alkali-Erdalkali-Silikat- Wollen

**Vorteil AES-Wollen gegenüber
Aluminiumsilikatwollen:
deutlich geringere Biopersistenz**

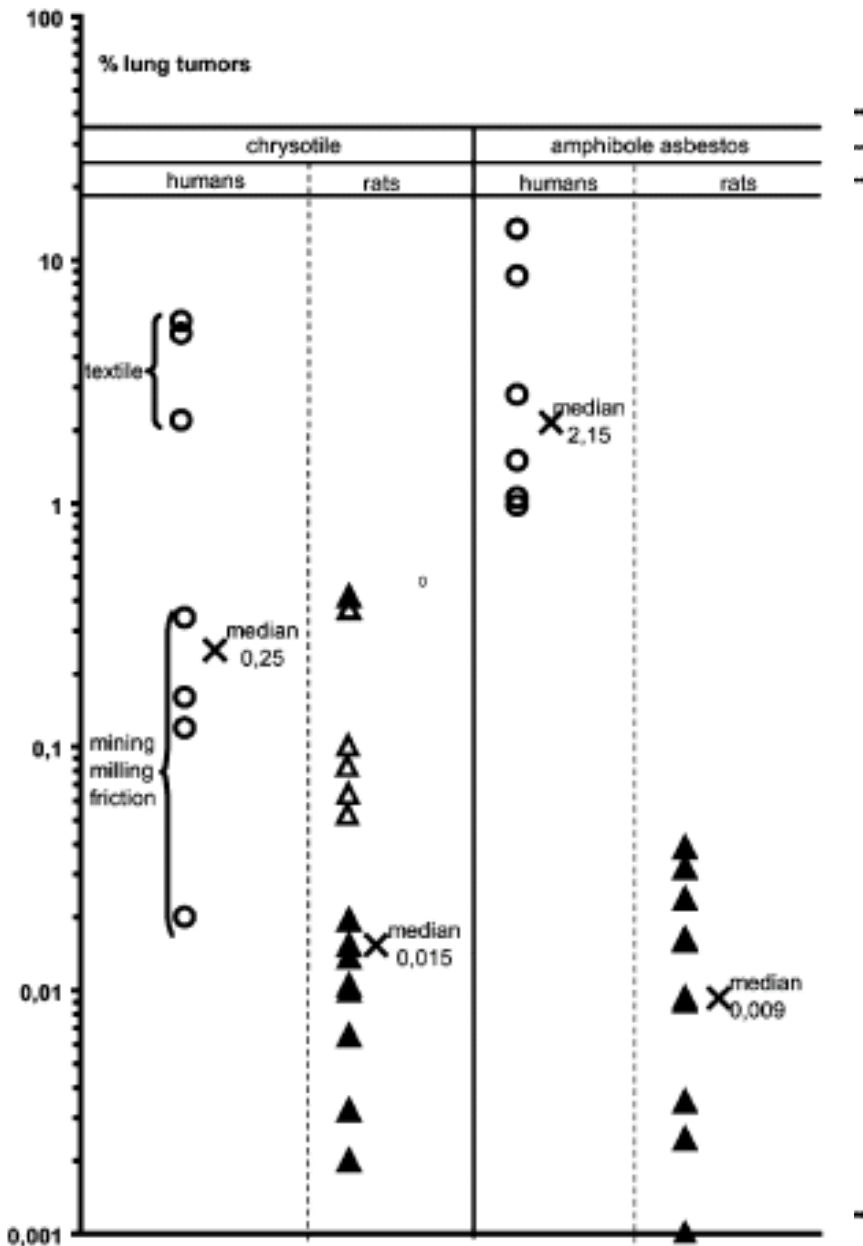
Definition der Dosis

- Die Dosis ist das Zeitintegral der effektiven Konzentration in einem Zielorgan oder an Zielzellen
- Für schwer lösliche Fasern: möglicherweise anderer Zusammenhang als bei molekular dispersen Stoffen





Vergleich des Tumorrisikos von Asbestfasern für Asbestarbeiter (nach 25-jähriger Exposition) mit Tierversuchen



**Berechnetes
Lungentumorrisiko von Ratten
und Excess
Lungentumorrisiko bei
Menschen (Expositionsdauer
40 Jahre) nach einer
Exposition gegenüber einer
Faser pro ml. Es wurde eine
lineare Dosis-Wirkungskurve
angenommen. (Wardenbach et
al. 2005)**



Tab 1 Results of the RCC F344 Rat Inhalation Experiments with RCF1

<i>Exposure (mg/m³)</i>	<i>Total f/ml</i>	<i>WHO f/ml</i>	<i>Number of Animals at Risk^a</i>	<i>Number of Tumours</i>				
				<i>Adenom as</i>	<i>Carcino mas</i>	<i>Adenom as and Carcino mas</i>	<i>Mesothelio mas</i>	<i>All Tumo rs</i>
0	0	0	256	3	0	3	0	3
3	36	26	123	2	0	2	0	2
9	91	75	127	4	1	5	1	6
16	162	120	124	1	1	2	0	2
30	234	187	121	8	8	16	2	18

Note:

^a Data taken from Yu and Oberdörster, 2000; SII, 1998. Minor differences exist between the data and assumptions used in these references.



Table 2. The half times for the clearance of radioactive scandium oxide particles from the thorax of rats after short inhalation exposure. Full details in Bellmann et al., 2001.

<i>Group</i>	<i>Half-time for alveolar tracer clearance (95% confidence limits) {days}</i>
Control	60 (49-77)
RCF1a	80 (71-91)
<i>Earlier study (Creutzenberg et al., 1997)</i>	
Control	66 (58-88)
RCF1	1200 (573- ∞)



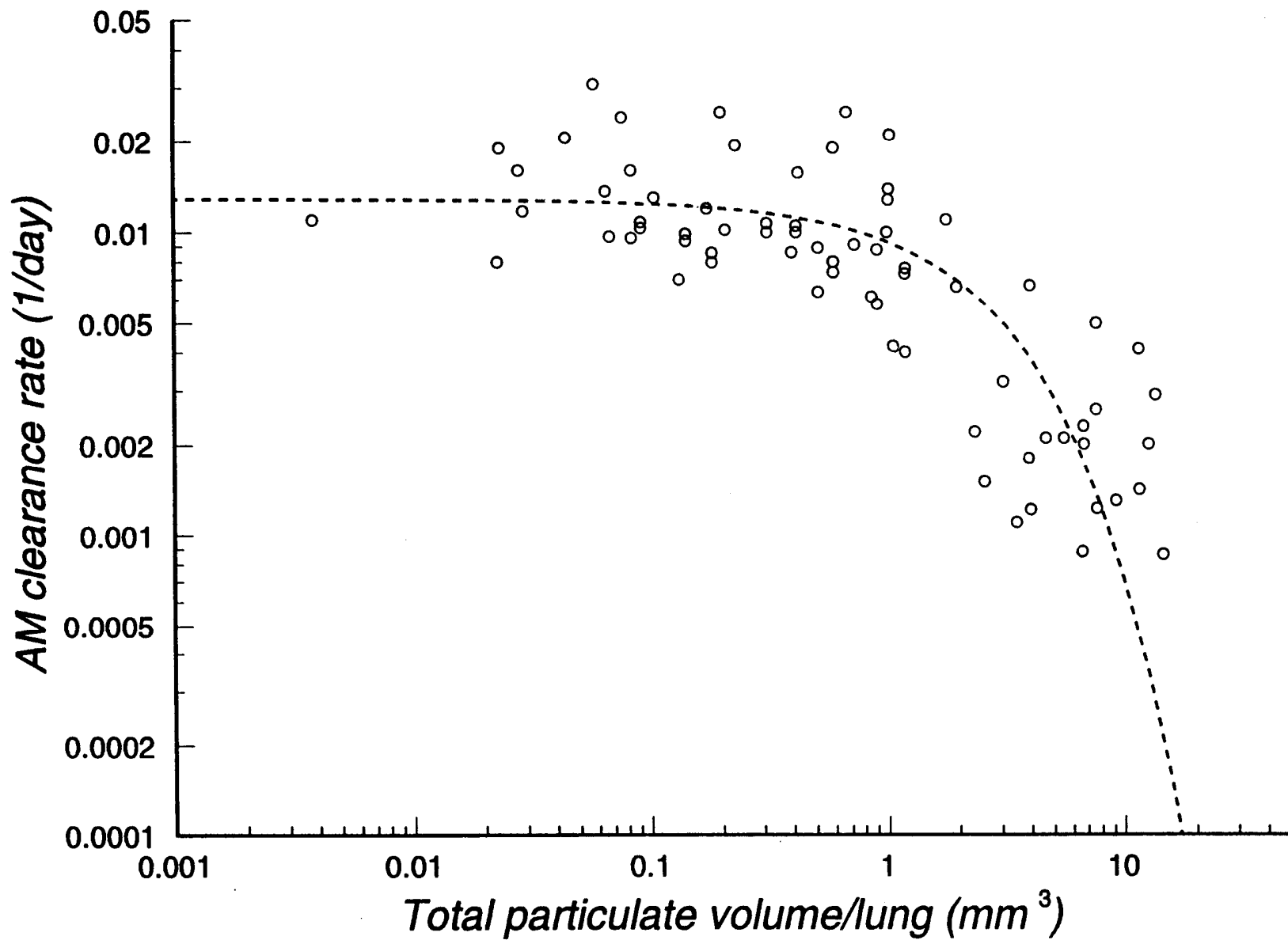


Table 3. The burden of particles and fibres in the lungs of rats after 3-week exposures (Bellmann et al. 2001)

<i>Treatment/ time after exposure ceased</i>		<i>Numerical burden (x 10⁶/lung)</i>			<i>Mass concentration (mg/lung)</i>	
		<i>Fibres L>20µm</i>	<i>WHO Fibres</i>	<i>Particles</i>	<i>Fibres</i>	<i>Particles</i>
RCF1a	3 Days	4.999	25.51	6.9	0.463	0.045
	12 m	0.074	1.15	0.6	0.012	0.002
RCF1	3 Days	3.279	29.60	102.4	0.666	1.181
	12m	0.119	2.28	2.1	0.028	0.027



Table 3. Summary of mortality experience for each fibre type

Fibre label	Animals in group	Number with mesothelioma	%	Median all-cause survival (days)	<i>Estimated standard error</i>	Median mesothelioma survival (days)	<i>Estimated standard error</i>
100/475	24	8	33	642	*	679	24
SiC 1	24	22	92	250	45	257	52
Amosite	24	21	88	509	27	509	27
MMVF 10	22	13	59	643	87	676	43
MMVF 21	20	19	95	281	*	284	*
MMVF 22	24	13	54	658	*	695	*
RCF 1	24	21	88	337	17	337	17
RCF 2	18	13	72	376	25	391	25
RCF 4	22	0	0	725	*	†	†

* Sparse data—no reliable estimate.

† No deaths—function not defined.

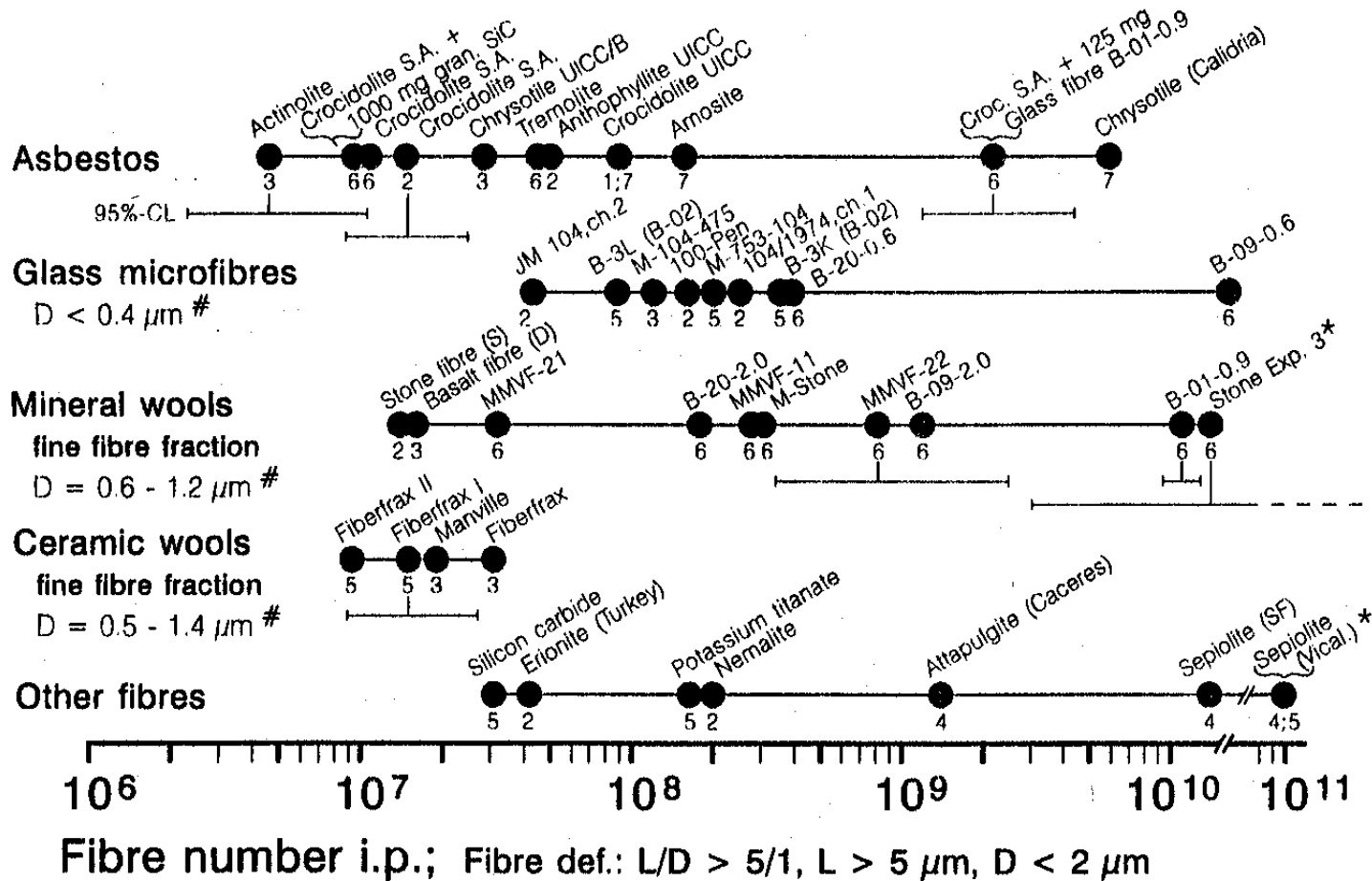
Untersuchungen der Mesotheliomraten nach intraperitonealer Injektion von 10^9 Fasern mit einer Länge $> 5 \mu\text{m}$ (Miller et. al. 1999)

Kommentar: Die Mesotheliominzidenz war bei Amosit und RCF1 waren gleich



25 % Tumour risk of inorganic dusts with fibres

(Variable: Fibre dimensions, biodegradability, non-fibrous particles, other properties)



Vergleich der kanzerogenen Potenz verschiedener Fasern im intraperitoneal Test (Roller und Pott, 1998)



Fasertyp	TD25 i.p. [10 ⁹ Fasern]	Faktor relativ zu Krokydolith
Crocidolite, S.A. (1995)	0,011	0,9
Crocidolite, S.A. (1987)	0,015	1,3
Silicon carbide	0,031	2,6
Glass M 104/475	0,12	10,0
Potassium titanate	0,165	13,8
Ceramic, Fiberfrax II	0,0093	0,8
Ceramic, Fiberfrax I	0,015	1,3
Ceramic, Manville	0,019	1,6
Ceramic, Fiberfrax	0,031	2,6
Rockwool, Sweden	0,014	1,2
Basalt, G+H	0,016	1,3
MMVF-21 (stone)	0,032	2,7
MMVF-11 (glass)	0,28	23,3
M-stone	0,31	25,8
MMVF-22 (slag)	0,82	68,3
Glass B-01-0.9	11	916,7

Vergleich der TD25 verschiedener Mineralfasern zu Krokydolith im Versuchsmodell nach intraperitonealer Injektion



Fasertyp	L^a [µm]	BMD₁₀ / T₁₀ [F x 10⁹]	HWZ i.tr. [d]
R-stone-E3	16,9	1,6	16
B-01-0,9	9	4,98	18
MMVF-22	8,7	0,47	77
M-stone	10,1	0,13	122
MMVF-11	14,6	0,12	155
MMVF-21	16,9	0,048	276
Aluminiumsilikat	13,1	0,0047	296
Krokydolith	1,8	0,007	689

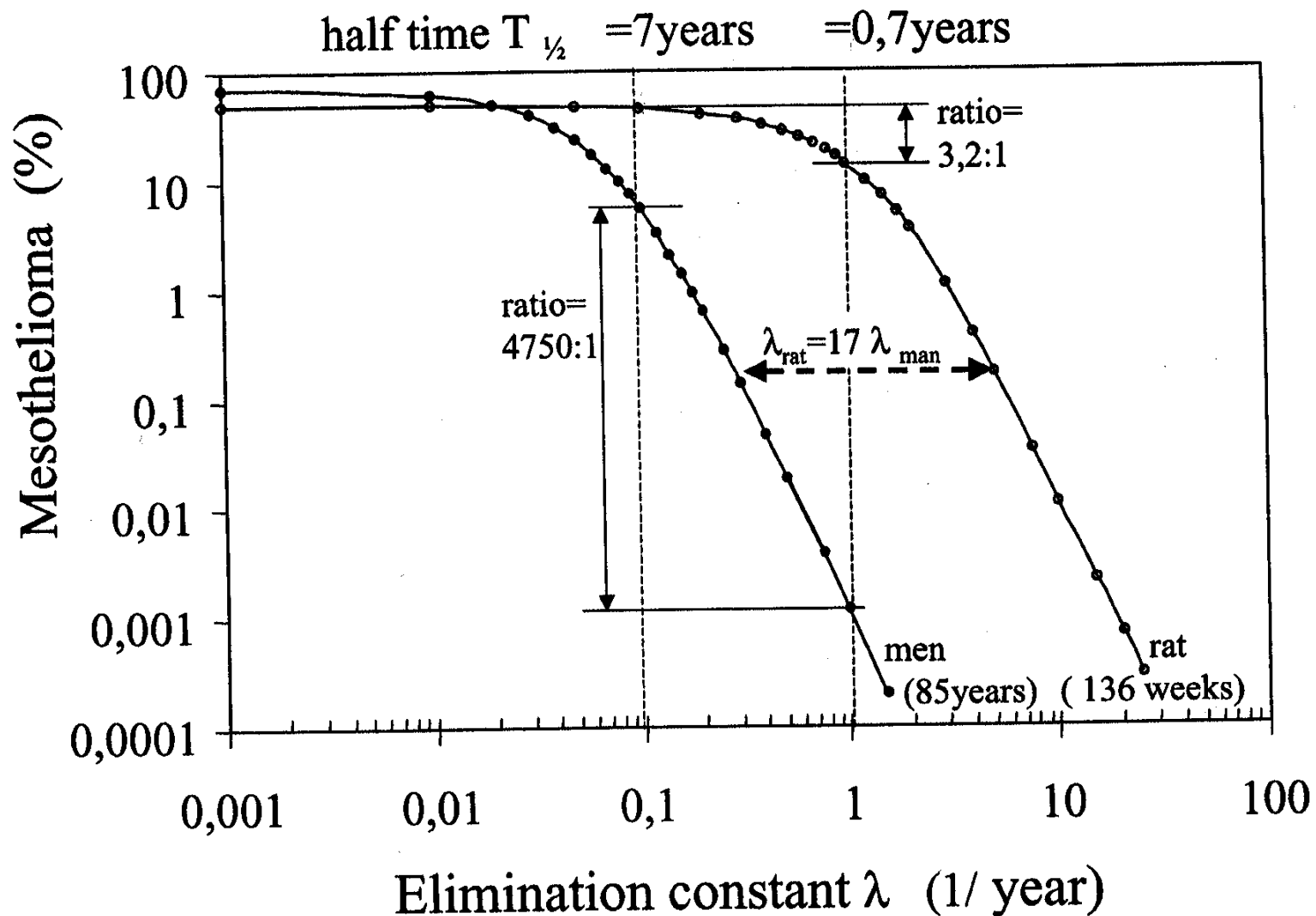
Daten zum Zusammenhang von Faserlänge und Biobeständigkeit mit der kanzerogenen Potenz. a: Median der Faserlänge des i.p. geprüften Staubs



Diskussion

Sollte die Bewertung von Risiken von schwer löslichen Fasern auf der Basis von Faserjahren erfolgen (wie bei Asbest) oder auf der Basis der Faserzahl im Aerosol?

Sollten WHO-Fasern mit einer Größe z.B. zwischen 2 μm und 3 μm entsprechend ihrer geringeren Lungengängigkeit anders bewertet werden als Fasern mit einem Durchmesser von < 1 μm ?



Kumulative Inzidenz von Mesotheliomen bei Ratte und Mensch nach Exposition gegenüber Fasern

Kommentar zu Publikationen von Berry (1999) und Rödelsperger (2004)

Berry hat sich nicht mit der kanzerogenen Potenz von Fasern auseinandergesetzt, sondern er hat Modellberechnungen durchgeführt, die sich mit der relativen Bedeutung der Biopersistenz verschiedener künstlicher Mineralfasern im Vergleich zu Amphibolasbest beschäftigt. Er verbindet direkt die Elimination von Fasern aus der Lunge mit der Mesotheliomrate.

Dieses Vorgehen ist im Widerspruch zu den Modellen, die üblicherweise bei der Faserkanzerogenese eingesetzt werden (Moogavkar et al. 1999). Konsequenterweise sind auch die Schlussfolgerungen von Herrn Rödelsperger mit dieser Einschränkung zu sehen.

Current EU regulation on vitreous fibres

- In the current EU regulation of man-made vitreous fibres (NOTA Q) only data on biopersistence **or** the results of carcinogenicity studies are used
- No information on the toxicity profile of fibres are required e.g. like persistent proliferation of epithelial cells



Bewertung durch Internat. Krebsagentur (IARC, 2002) bei Versuchstieren

- „**Hinreichende Evidenz**“ für Kanzerogenität von Spezialglasfasern (E-Glas und ,475‘)
- „Limitierte Evidenz“ für Kanzerogenität von Steinwolle
- „Limitierte Evidenz“ für Kanzerogenität von Schlackenwolle
- „Limitierte Evidenz“ für Kanzerogenität von Glaswolle
- „**Hinreichende Evidenz**“ für Kanzerogenität von Keramikfasern



Zusammenfassende Bewertung durch Internat. Krebsagentur (IARC): Neu entwickelte Mineralfasern

- **Keine zusammenfassende Bewertung von neu entwickelten Fasern mit einer geringen Biobeständigkeit (z.B. Erdalkali-Silicate [X-607] oder Steinwollen mit hohem Aluminiumgehalt und niedrigen Siliciumgehalt [HT])**
- **Grund: Keine Epidemiologie vorhanden**
- **Tierversuche: Keine bedeutsamen Hinweise auf krebserzeugendes Potential**
- **Schwierigkeiten, wie die neu entwickelten Fasern für eine Bewertung in sinnvolle Gruppen eingeteilt werden können.**
- **Das Prinzip der Biopersistenz für die Fasercharakterisierung wurde von der IARC nicht eingeführt.**



Clearance von Fasern

$$\frac{dm}{dt} = -k m$$

(vereinfacht)

$$k = k_{\text{clear}}$$

Physikalische
Entfernung durch
Zilien und
Makrophagen

Faktoren:
Faserdurchmesser
Faserlänge
Retinierte Masse in der Lunge
Dauer der Exposition

+

$$k_{\text{Diss}}$$

Biolöslich-
keit

Faktoren:

Fraktion von Fasern innerhalb
oder
außerhalb von Makrophagen
(pH, Fluss)
Fasertyp, Faserdurchmesser und
Länge

+

$$k_{\text{Decomp}}$$

Brechen und
Korrosion

Faktoren:

Fasertyp
Faserlänge

