

# Granuläre biobeständige Stäube – ein neues Paradigma?

Institut für Angewandte Biowissenschaften, Lebensmittelchemie und Toxikologie

**Prof. Dr. Andrea Hartwig**  
**Karlsruher Institut für Technologie**  
**Lebensmittelchemie und Toxikologie**  
**Vorsitzende der MAK-Kommission**

# Aufgaben der MAK-Kommission

---

- **Arbeitsstoffbewertungen**  
(Einzelstoffbetrachtungen)
  
- **Konzeptionelle Arbeiten**  
(Bewertungskriterien)

# Allgemeiner Staubgrenzwert - Historie

---

Allgemeiner Staubgrenzwert (1987)

6 mg/m<sup>3</sup> Feinstaub

Allgemeiner Staubgrenzwert (1997)

4 mg/m<sup>3</sup> Einatembare  
Fraktion (E)

1,5 mg/m<sup>3</sup> Alveolengängige  
Fraktion (A)

## Grundlage für Grenzwert 1997:

- Verhinderung unspezifischer Wirkungen auf die Atmungsorgane, wie Beeinträchtigung der Atemwegs-Clearance, chronisch-entzündliche Veränderungen der Bronchialschleimhaut, obstruktive Ventilationsstörungen

# Granuläre biobeständige Stäube (GBS) - Historie

---

- Im Jahre **2000 Gründung einer Arbeitsgruppe** „Kanzergenität schwerlöslicher Partikel“ mit Vertretern der MAK-Kommission und des AGS; erste Sitzung Januar 2002

Grund: Die damals **neuen Daten zur Kanzerogenese granulärer biobeständiger Stäube (GBS) bei Versuchstieren (19-Stäube-Versuch)** erforderten eine Neubewertung des Allgemeinen Staubgrenzwertes.

- **2011** Festsetzung des **Allgemeinen Staubgrenzwertes für Granuläre Biobeständige Stäube (GBS) auf  $0,3 \text{ mg/m}^3$**  (alveolengängige Fraktion), bezogen auf eine Dichte von  $1 \text{ g/cm}^3$
- **Einstufung in die Kategorie 4** für Kanzerogene

# Mitglieder der gemeinsamen Arbeitsgruppe

---

Prof. Dr. J. Bruch, Marl  
**Prof. Dr. H. Greim (Sitzungsleiter), Freising**  
Prof. Dr. E. Hallier, Göttingen  
Prof. Dr. A. Hartwig, Karlsruhe  
Prof. Dr. U. Heinrich, Hannover  
Prof. Dr. H. Muhle, Hannover  
Prof. Dr. H.-W. Thielmann, Heidelberg  
Prof. Dr. H.-P. Gelbke, Speyer  
Prof. Dr. M. Kayser, Ludwigshafen  
Prof. Dr. G. Schlüter, Wuppertal  
Dr. M. Roller, Dortmund  
Prof. Dr. P. Wardenbach, Dortmund  
Prof. Dr. T. Brüning, Bochum  
Dr. R. Jung, Sulzbach  
Dr. E. Leibold, Ludwigshafen  
Prof. Dr. J. Pauluhn, Wuppertal  
Prof. Dr. H.-J. Woitowitz, Gießen

# GBS - Definition

---

- **Stäube ohne stoffspezifische Toxizität** (keine genotoxische, krebserzeugende, fibrogene, allergisierende oder sonstige systemisch-toxische Wirkung)
- **Unlöslich oder schwer löslich in biologischen Flüssigkeiten** (insbesondere Lungen-Surfactant)
- Grenzwert gilt für **Alveolengängige Fraktion (A-Fraktion)**; gilt nicht für ultrafeine Partikel

# GBS - Fragestellung und Vorgehensweise der AG

---

## Hazard-Identifizierung

- Bewertung tierexperimenteller sowie epidemiologischer Studien bezüglich der Kanzerogenität der granulären biobeständigen Stäube
- Identifizierung des Wirkungsmechanismus
- Übertragbarkeit der Ergebnisse aus den tierexperimentellen Studien auf den Menschen unter Berücksichtigung des Wirkungsmechanismus und toxikokinetischer Aspekte?

## Risiko-Bestimmung

- Dosis-Wirkungs-Beziehung, NOAEL aus Tierstudien
- Umrechnung des NOAEL aus Tierstudien auf Human-äquivalente Expositionen
- Ableitung eines MAK-Wertes

# Toxikokinetik

---

- **Ablagerung** inhalierter schwerlöslicher Partikel in den Kompartimenten des Respirationstraktes (Nasopharynx, tracheobronchialer Bereich, pulmonaler Bereich) in Abhängigkeit vom aerodynamischen Durchmesser
- **Retention** wird durch Deposition und Clearance bestimmt
- **Depositionsanteil** weitgehend unabhängig von der Dosis;
- **Clearance** wird durch erhöhte Staubbelastung des Atemtraktes verlangsamt

- Bei niedriger gleichbleibender Exposition Einstellung eines „steady state“
- Bei höheren Konzentrationen Akkumulation der Partikel; bei vollständig unterdrückter Clearance nahezu linearer Anstieg der retinierten Staubmenge („Overload“)

# Epidemiologische Studien

---

- Mehrere epidemiologische Studien zu einzelnen GBS
  - Inkonsistente Ergebnisse
  - Methodische Probleme einiger dieser Studien
- Probandenstudien
  - Keine Probandenstudien zu einzelnen GBS
  - Probandenstudien zu Dieselmotoremissionen:  
Entzündungsreaktionen nach 1 h gegenüber  $108 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ;  
allerdings unklar ob nur Partikeleffekte verantwortlich sind

Keine endgültige Aussage zur kanzerogenen Wirkung der GBS beim Menschen ableitbar

# Tierexperimente/subchronische und chronische Toxizität

---

## Inhalationsstudien an Ratten:

- Titandioxid
- Industrieruß („Carbon Black“)
- Toner

## Entzündungsreaktionen in der Lunge:

- **histopathologische Veränderungen:** Ansammlung von Partikel-beladenen Makrophagen innerhalb des Lumens der Alveolen; Ansammlung neutrophiler Granulozyten und Lymphozyten
- **Veränderungen in BAL:** Zellzahl ( Granulozyten, Leukozyten)↑, Proteingehalt ↑, Laktatdehydrogenase ↑,  $\beta$ -Glucuronidase ↑, Cytokine, Wachstumsfaktoren

# Tierexperimente/Kanzerogenität

---

## Inhalationsstudien an Ratten:

- Titandioxid (Lee et al. 1985, 1986, Muhle et al. 1991)
- Industrieruße (Heinrich et al. 1994, 1995; Mauderly et al. 1994; Nikula et al. 1995)

## Studien nach intratrachealer Instillation an Ratten:

- 19-Stäube-Studien (Pott und Roller 2003; Roller und Pott 2006)
- Industrieruße (Dasenbrock et al. 1996; Kawabata et al. 1986)
- Titandioxid (Pott et al. 1987, Pott und Roller 1994)

- Lungentumoren bei Ratten in hohen Konzentrationen
- Soweit untersucht keine Tumoren bei Mäusen und Hamstern

# Entscheidende Fragen für Einstufung und Grenzwertsetzung

---

- Wirkungsmechanismus Kanzerogenität?
- Genotoxische oder nicht-genotoxische Mechanismen entscheidend?
- NOAEL ableitbar?
- Übertragbarkeit auf den Menschen?

# Wirkungsmechanismus

## Entzündungsreaktionen Voraussetzung für Kanzerogenität:

- diffuse Ansammlung von Partikel-beladenen Makrophagen innerhalb des Lumens der Alveolen und der Alveolengänge
  - zeitlich versetzte Ansammlung neutrophiler Granulozyten und Lymphozyten, Alveolarhypertrophie, Hyperplasie von Typ II-Epithelzellen meist in der Umgebung aggregierter Partikel-beladener Makrophagen
  - Tumore
- 
- **Die am Versuchstier gewonnenen Erkenntnisse sind unter Berücksichtigung Spezies-spezifischer Voraussetzungen (Anatomie und Histologie des Respirationstraktes) auf den Menschen übertragbar.**
  - **Expositionen, die nicht zu entzündlichen Reaktionen führen, bergen sowohl bei Ratten als auch beim Menschen kein erhöhtes Tumorrisiko.**

# Wirkungsmechanismus - molekulare Ereignisse

---

## Wechselwirkungen von Partikeln mit Alveolarmakrophagen

- Aufnahme der Partikel über Oberflächenrezeptoren → Abkapselung in Phagolysosomen
- Versuch des Abbaus der Partikel durch Synthese reaktiver Sauerstoffverbindungen (ROS); können auf epitheliale Nachbarzellen übergehen
- ROS stimulieren spezielle Signalwege; Expression von Genen zur Anreicherung und Aktivierung von Phagozyten sowie zur Proliferation benachbarter Bronchial- und Alveolarepithelien; Freisetzung u.a. von Interleukinen
- Induktion oxidativer DNA-Schäden in Makrophagen selbst (unbedeutend für Kanzerogenese) und in benachbarten Epithelzellen (Ursprungszellen für Lungentumore) → sekundäre Genotoxizität

# Genotoxizität - Ergebnisse in Kurzzeittests

---

## In-vitro Tests

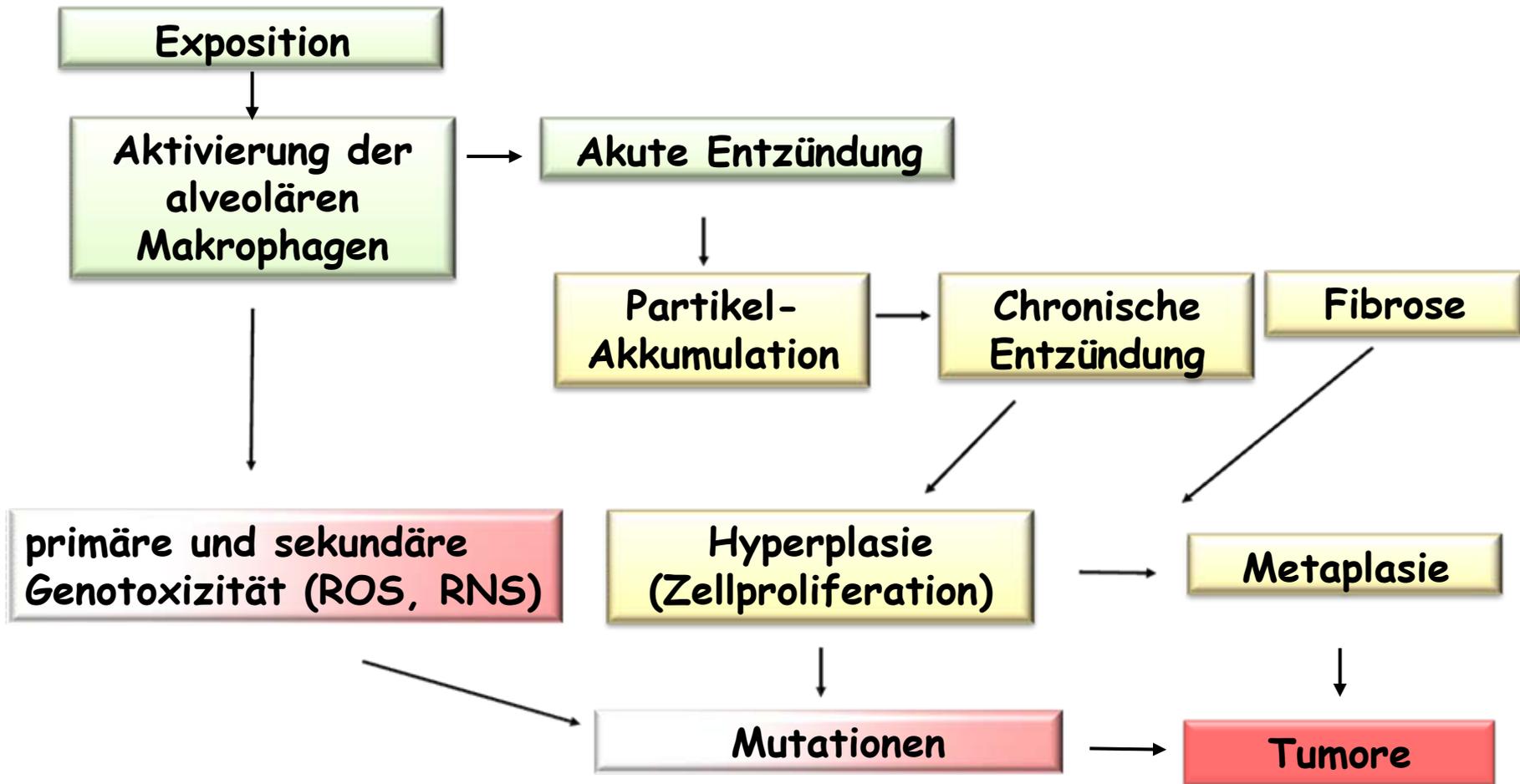
- neben negativen Ergebnisse auch vereinzelte positive bei hohen Konzentrationen

## In-vivo Studien

- Nach intratrachealer Applikation und Inhalation Induktion von Mutationen in Epithelzellen; nur bei Konzentrationen, die zu signifikanten Entzündungsreaktionen führten

Kurzzeittests unterstützen im Wesentlichen das Modell der sekundären Genotoxizität als Folge von Entzündungsreaktionen

# GBS - Wirkungsmechanismus



# GBS - Einstufung in die Kategorie 4 für Kanzerogene

---

## Definition der MAK-Kategorie 4 für Kanzerogene:

- Stoffe mit krebserzeugender Wirkung, bei denen ein nicht-genotoxischer Wirkungsmechanismus im Vordergrund steht  
und
- genotoxische Effekte bei Einhaltung des MAK- und BAT-Wertes keine oder nur eine untergeordnete Rolle spielen.

Unter diesen Bedingungen ist kein Beitrag zum Krebsrisiko für den Menschen zu erwarten.

### Bezogen auf GBS:

Bei Vermeidung von Entzündungsprozessen in der Lunge ist kein erhöhtes Krebsrisiko zu erwarten

→ Einstufung in Kategorie 4 für Kanzerogene

# Ableitung des MAK-Wertes für die A-Fraktion

---

## Verfahren A

- Daten aus einer 2-Jahres-Inhalationsstudie an Ratten mit Toner (1, 4 und 16 mg/m<sup>3</sup>) und TiO<sub>2</sub> (5 mg/m<sup>3</sup>)
- NOAELs für entzündliche Lungenreaktionen 1 mg/m<sup>3</sup> (Toner) und 5 mg/m<sup>3</sup> (TiO<sub>2</sub>)
- Berechnung der HEC (Human Equivalent Concentration) mit Hilfe des MPPD (Multiple-Path-Particle-Dosimetry)-Modells der US EPA (2004):
  - 0,133 mg/m<sup>3</sup> bzw. 0,11mg/m<sup>3</sup> bezogen auf Dichte 1 g/cm<sup>3</sup> für Toner und
  - 1,06 mg/m<sup>3</sup> bzw. 0,25 mg/m<sup>3</sup> bezogen auf die Dichte 1 g/cm<sup>3</sup> für TiO<sub>2</sub>

# Ableitung des MAK-Wertes für die A-Fraktion

---

## Verfahren B

- Daten aus verschiedenen Studien an Ratten
- Vermeidung von Overload-abhängiger Clearance-Beeinträchtigung (Beladungsvolumen der alveolären Makrophagen von nicht mehr als 6 %)
- mit Hilfe des MPPD-Models Grenzwert von  $0,5 \text{ mg/m}^3$  für Toner

Da beide Verfahren plausibel sind, wurde keinem der Vorzug gegeben, sondern ein mittlerer Wert als MAK-Wert festgelegt:

**MAK-Wert GBS (A-Fraktion):  $0,3 \text{ mg/m}^3$**

# GBS - Zusammenfassung MAK-Werte und weitere Einstufungen 2011

---

- **4 mg/m<sup>3</sup> Einatembare Fraktion (E)** vgl. Abschn. V f) und g) der MAK-Werte-Liste
- **0,3 mg/m<sup>3</sup> Alveolengängige Fraktion (A)\***, Spitzenbegrenzung Kategorie II, Überschreitungsfaktor 8
- **Krebserzeugend Kategorie 4, Schwangerschaftsgruppe C**

\*für Stäube mit einer Dichte von 1 g/cm<sup>3</sup>

# Geltungsbereich GBS

---

- **MAK-Werte gelten für**
  - Schwer lösliche oder unlösliche Stäube, die nicht anderweitig reguliert sind
  
- **MAK-Werte gelten nicht für**
  - Ultrafeine Partikel

# Danksagung

---

- Dank an alle Mitglieder der Arbeitsgruppe, insbesondere Herrn Prof. Greim
- Dank an das wissenschaftliche Sekretariat, insbesondere Frau Dr. Ziegler

Vielen Dank für Ihre  
Aufmerksamkeit