

Gutachten zur biologischen Plausibilität von HEC und MPPD

Forschungs- und Beratungsinstitut Gefahrstoffe GmbH (FoBiG)
Klarastr. 63, 79106 Freiburg

Bearbeitung:

Dr. Fritz Kalberlah
Dr. Klaus Schneider
Dr. Ulrike Schuhmacher-Wolz

Im Auftrag von:

Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin, Dortmund

Freiburg, Juli 2011

Inhaltsverzeichnis

1	Zusammenfassung	4
2	Hintergrund und Aufgabenstellung	14
3	Ausgangsbasis: Tierstudien als Basis der Bewertung von Langzeiteffekten von inhalierten Aerosolen und Partikeln	15
4	Dosimetrie bei Partikeln und Aerosolen im unteren Atemtrakt – quantitative Zusammenhänge und Unsicherheiten	19
4.1	Gleiche Dosis – gleiche Wirkung?	19
4.1.1	Kanzerogene Substanzen (Allgemeine Betrachtung).....	19
4.1.2	Kanzerogene Substanzen (Lungentumoren)	21
4.1.3	Nichtkanzerogene Substanzen	23
4.2	Vergleichbarkeit: Zielzellen und Mechanismus	25
4.2.1	Kanzerogene Substanzen	25
4.2.2	Nichtkanzerogene Substanzen	30
4.3	Normalisierungsmethoden	33
4.3.1	Krebserzeugende Wirkung.....	33
4.3.2	Nichtkanzerogene Wirkung	43
4.4	Dosismaße	44
4.5	Partikelgrößenverteilungen	47
4.6	Clearance bei schlecht löslichen Substanzen.....	49
4.6.1	Tracheobronchiolare Clearance	49
4.6.2	Alveoläre Clearance	50
4.7	Berücksichtigung der Clearance bei löslichen Verbindungen	54
4.8	Overload	57
5	Dosimetrische Modellierung	59
5.1	HEC-Konzept der U.S. EPA	59
5.2	Beschreibung von MPPD - Grundlagen	61
5.2.1	Struktur	61
5.2.2	Ergebnisberichterstattung des Modells	62
5.3	Modellierung mit MPPD – Diskussion der Eingangsdaten	63
5.3.1	Atemwegsmorphologie (“Airway morphology”).....	63
5.3.2	Partikeleigenschaften (“Particle properties”)	65

5.3.3	Expositionsszenario (“Exposure Scenario”) (einschl. Konzentration und körperliche Aktivität).....	67
5.3.4	Clearance („Clearance Settings”).....	70
5.3.5	Outputpräsentation.....	73
6	Handlungsanweisung	75
6.1.1	Handlungsanleitung für den Leitfaden für kanzerogene Stoffe (ERB)	75
6.2	Integration des HEC-Konzepts in das AGW-Konzept.....	79
7	Literatur	80

1 Zusammenfassung

Die vorliegende Studie beschäftigt sich mit der Interspeziesextrapolation zu Partikeln und Aerosolen in Hinblick auf lokale kanzerogene und nichtkanzerogene Effekte nach chronischer Exposition über den inhalativen Aufnahmepfad am Arbeitsplatz. Es ist ein Standardverfahren vorzuschlagen, wie aus einer Effektkonzentration im Tierexperiment (C_T) eine humanäquivalente Konzentration (HEC) ermittelt werden soll.

Bei Interspeziesextrapolationen wird als Hypothese unterstellt, dass verschiedene Spezies im Durchschnitt gleich empfindlich gegenüber Schadstoffen reagieren, nachdem ggfls. korrigierende Faktoren zur Toxikokinetik berücksichtigt wurden, um physiologischen Besonderheiten der jeweiligen Spezies Rechnung zu tragen. Im Rahmen dieser Studie wurde überprüft, ob die Ausgangshypothese zutrifft und welche Größe ggfls. die korrigierenden Faktoren aufweisen sollten.

Gleiche Dosis führt bei verschiedenen Spezies zu gleicher Wirkung

Für lokale krebserzeugende Wirkungen gibt es deutliche Hinweise, dass Versuchstier und Mensch bei gleicher Exposition im Standardfall gleichartige Effekte in etwa gleichem Ausmaß (in der gleichen Größenordnung) zeigen. Die Beobachtung gleicher Wirkung im Interspeziesvergleich beruht darauf, dass den größeren Körpermaßen beim Menschen und seiner Langlebigkeit gegenüber dem Versuchstier auf der anderen Seite bessere biologische Kontrollmechanismen gegenüberstehen, die eine stärkere Krebsinzidenz verhindern (Erklärung zu Peto's Paradox). Dabei ist die Messgröße zur Exposition nicht eindeutig beschreibbar, bei der die Spezies etwa gleiche Wirkung zeigen. Die Gleichheit könnte bestehen:

- bei einer von mehreren möglichen Dosisdefinitionen,
 - z.B. ca. gleicher zugeführter Dosis über die Konzentration in der Umgebungsluft, oder
 - bei gleicher deponierter Dosis im Atemtrakt oder in bestimmten Lokalbereichen des Atemtrakts oder
 - bei gleicher retinierte Dosis im Atemtrakt oder in bestimmten Lokalbereichen des Atemtrakts und
- bei einer von mehreren möglichen Arten der Beschreibung der Partikel- oder Aerosoleigenschaften über
 - Masse oder
 - Partikelanzahl oder
 - Partikeloberfläche oder
 - Partikelvolumen.

Vor dem Hintergrund dieser Ungenauigkeit und Unsicherheiten ist die Annahme: „Gleiche Dosis führt bei verschiedenen Spezies zu gleicher Wirkung“ kein konservativer Startpunkt für den Speziesvergleich.

Für nichtkanzerogene Wirkungen gilt die gleiche Ausgangsannahme („Gleiche Dosis führt bei verschiedenen Spezies zu gleicher Wirkung“) mit besserer Absicherung, weil mehr Messdaten im Speziesvergleich vorliegen, die kausale Zuordnungen ermöglichen, weil weniger komplexe Regelkreise beim Mechanismus zu berücksichtigen

gen sind (das Peto's Paradox liegt nicht im gleichen Ausmaß vor) und weil die vorliegenden Beobachtungen tendenziell auch eindeutige Dosisdefinitionen zulassen.

Fundiert begründete Aussagen zu *relativen* Verhältnissen müssen im Interspeziesvergleich berücksichtigt werden

Ungeachtet der grundlegenden Unsicherheiten bei der Ausgangsannahme sollten bei einer Speziesextrapolation im Standardfall solche Informationen für eine Einordnung berücksichtigt werden, die eindeutige *relative* Aussagen ermöglichen: wenn zum Beispiel bei bestimmten Partikelgrößen höhere Konzentrationen am Wirkort bei der Ratte im Vergleich zum Menschen deponiert werden als bei anderen Partikelgrößen, rechtfertigt dies die Berücksichtigung dieser Unterschiede für den Speziesvergleich. Diese Aussage trifft jedoch nur dann zu, wenn mit hinreichender Sicherheit ein kausaler Zusammenhang zwischen der deponierten Dosis, der Partikelgröße und dem Wirkort etabliert werden kann. Deshalb wurden diese Zusammenhänge für alle relevanten Parameter der zur Diskussion stehenden Dosisdefinitionen geprüft.

Vergleichbarkeit des Wirkorts und des Wirkmechanismus

Ein wesentlicher Tumortyp bei Maus und Ratte nach Einwirkung von lokal wirkenden Kanzerogenen sind Adenokarzinome im peripheren Lungenbereich. Dieser Tumortyp wird auch häufig beim Menschen beobachtet. Histopathologisch sind Adenokarzinome der Lunge in Maus und Mensch nicht unterscheidbar. Die molekularbiologischen Veränderungen sind zumindest ähnlich. Die vermuteten Ursprungszellen (Bronchioalveoläre Stammzellen; BASCs) liegen wahrscheinlich beim Nager wie beim Menschen im Übergangsepithel der Bronchiolen zum Alveolarbereich, wobei beim Nager die Tumoren im distalen Bereich (alveolären Bereich) zu finden sind, was beim Mensch nicht im gleichen Ausmaß und nicht immer der Fall ist. Bei den ebenfalls wichtigen Plattenepithelkarzinomen scheint sich die Lokalisation zwischen Ratte und Mensch unterscheiden zu können (bei der Ratte distal, beim Mensch in den Bronchien). Die Relevanz von Adenokarzinomen beim Nager gegenüber anderen Tumortypen überwiegt, während beim Mensch deutlich mehr andere Tumortypen mit je ähnlichem Gewicht auftreten. Dieser Unterschied legt es nahe, dass dem Adenokarzinom beim Nager mit relevanter Häufigkeit andere Tumortypen beim Menschen entsprechen können. Mögliche Vorläufereffekte wie Hyperplasie oder Stromaeffekte sind in den unterschiedlichen Spezies unterschiedlich ausgeprägt. Vor diesem Hintergrund scheint die Übertragbarkeit im Speziesvergleich bei Adenokarzinomen war ungenau, jedoch berechtigt, bei anderen Tumortypen sind relevante Unterschiede im Wirkort und beim molekularen Wirkmechanismus wahrscheinlicher. Die Unterschiede können sich auch auf die Frage des angemessenen Normalisierungsmaßes auswirken: bei unterschiedlichem Wirkort wäre das zu wählende Bezugsgewebe bei der Dosisdefinition speziespezifisch zu unterscheiden.

Für nichtkanzerogene Effekte kann eine Übertragbarkeit von Wirkort und Wirkmechanismus im Standardfall angenommen werden, auch wenn es hiervon relevante Ausnahmen gibt. Bei Überladungseffekten („overload“, krebserzeugende Wirkung

und nichtkanzerogene Wirkung) liegen Speziesbesonderheiten vor, die einen quantitativen Speziesvergleich verhindern.

Deponierte Dosis und Normalisierung

Es ist davon auszugehen, dass das derzeit international am meisten eingesetzte Dosimetriemodell MCCP (hier in Version 2.1 eingesetzt) die Deposition von Partikeln und Aerosolen im unteren Respirationstrakt für Ratte und Mensch hinreichend korrekt beschreibt. Allerdings wurden bei Abweichungen vom Default bei der Ratte (erhöhte Aktivität mit flacherer Atmung) nicht plausible Ergebnisse gefunden, die Unsicherheiten in den Nebenbedingungen der Anwendung dieses Modells für die Deposition hervorrufen.

Für die Maus liegen derzeit keine hinreichend qualifizierten Dosimetriemodelle vor, die einen quantitativ hinreichend abgesicherten Speziesvergleich ermöglichen würden.

Das Modell ermöglicht für die Ratte auch eine Untergliederung der Ergebnisse: statt des Bezuges auf den gesamten Alveolarbereich kann eine regionale Differenzierung erfolgen. Es ist jedoch nicht möglich, unterschiedliche regionale Flächen bei den jeweiligen Spezies miteinander in Beziehung zu setzen. Dies führt zu gravierenden Unsicherheiten im Speziesvergleich, da sich gezeigt hat, dass regionale Differenzen in der Deposition massiv sind und dass hier Speziesunterschiede bestehen:

- An den Alveolargangbifurkationen finden erhebliche Partikelakkumulationen statt („hot spots“ in proximaler alveolarer Region), deren Auftreten mit den Tumorlokalisationen korrelieren, für die jedoch nur unzureichende Daten zu Speziesvergleichen bekannt sind.
- Die einzelnen Lungenlappen beim Menschen weisen sehr deutliche Unterschiede in der Akkumulation von Partikeln und im zugeordneten Auftreten von Lungenkrebs auf. Wegen der abweichenden Anatomie des Atemtrakts bei der Ratte sind diese Differenzen nicht angemessen mit ähnlichen regionalen Unterschieden im Tierexperiment vergleichbar.
- Lungentumoren beim Menschen finden sich zu ca. 50% im zentralen Bereich (eher auf die Bronchien zu beziehen) und zu ca. 50% im peripheren Bereich (eher auf den Alveolarbereich zu beziehen). Dieses Verhältnis weicht bei Nagern deutlich ab (mehr periphere Lokalisation), was vermutlich auf regionale Depositionsunterschiede zurückgeführt werden kann.

Somit lässt sich zwar die Gesamtdeposition differenziert und relativ genau mit Hilfe der dosimetrischen Modelle berechnen; diese Genauigkeit wird jedoch durch die Ungenauigkeiten und Unsicherheiten in der Zuordnung relevanter regionaler Depositionsunterschiede konterkariert. Vor diesem Hintergrund wird die Verwendung einfach kalkulierter Depositionsfraktionen mit Hilfe des MPPD-Modells fragwürdig.

Die beschriebene Problematik spiegelt sich in der Auswahl des geeigneten Normalisierungsmaßes wider. Wenn das adäquate Zielgewebe nicht genauer bekannt ist, ergeben sich Unsicherheiten über das geeignete Normalisierungsmaß, insbesondere, wenn hierfür Oberflächenmaße (Alveolaroberfläche, Oberfläche des Trache-

obronchialbereichs) gewählt werden. Aber auch bei Unterstellung einer homogenen Deposition ist die Auswahl des Normalisierungsmaßes schwierig. Grundsätzlich sollte das Normalisierungsmaß abhängig vom jeweils vorliegenden Wirkmechanismus erfolgen. Dabei stellt es jedoch in der Regel eine grobe Vereinfachung dar, nur *einen* Wirkmechanismus (z.B. nur makrophagenvermittelte Zytotoxizität und ggfls. daraus indirekt resultierende Kanzerogenität oder nur über die Einwirkung auf die Alveolaroberfläche vermittelte Toxizität) anzunehmen. Abgesehen von den Auswirkungen einer regionalen Differenzierung ergeben sich so durch die meisten sinnvollen Normalisierungsmaße Unterschiede auf die Interspeziesextrapolation, die im Bereich bis zu einer Größenordnung liegen. Zum Beispiel könnte eine Normalisierung auf die Anzahl der Makrophagen erfolgen oder alternativ eine Normalisierung auf die Anzahl von Typ-II-Zellen diskutiert werden – hieraus ergäbe sich in einem hier berechneten Beispiel eine Differenz um ca. den Faktor 6 im Interspeziesvergleich.

Auswahl eines Dosismaßes

Als Dosismaß kommen alternativ Partikelmasse, Partikeloberfläche, Partikelanzahl oder Partikelvolumen in Betracht. Die Verwendung der Massenangabe für Partikel oder Aerosole als Dosismaß ist nach Aussage der Mehrzahl der vorliegenden Studien nicht optimal – teilweise zeigen sich bessere Korrelationen zur Wirkstärke, wenn andere Dosismaße gewählt werden. Insbesondere bei schwer löslichen Partikeln, die aus der Lunge vornehmlich über Phagozytose entfernt werden, kann das Partikelvolumen als Dosismaß toxikologisch besser interpretiert werden. Bei Nanopartikeln scheint der Einbezug des Partikelvolumens eine bessere toxikologische Interpretation zu ermöglichen. Bei zugleich toxikologisch aktiven Substanzen (also nicht granulären biobeständigen Stäuben (GBS)) oder besser löslichen Substanzen spielen jedoch neben der Phagozytose auch andere Faktoren eine Rolle, bei denen bisher kein ausreichender mechanistisch interpretierbarer Zusammenhang mit dem Partikelvolumen hergestellt wurde. Die Aussagekraft der Partikeloberfläche und der Partikelanzahl wird für diesen Fall widersprüchlich eingeschätzt. Das Partikelvolumen scheint nur noch beschränkt aussagekräftig.

Bei der hier vorliegenden Fragestellung, dem Interspeziesvergleich, scheint jedoch dieses Auswahlproblem nachrangige Bedeutung zu haben. Meist führt die Auswahl des Dosismaßes zu einer Unsicherheit mit einem Faktor von ca. 2, der gegenüber den anderen hier beschriebenen Unsicherheiten klein ist. Dies trifft jedoch nur dann zu, wenn in der Dosisberechnung für den Menschen die gleiche Partikelcharakteristik und –größenverteilung (das gleiche Dosismaß) angenommen werden wie für den Tierversuch. Auch im Randbereich (z.B. Exposition gegenüber groben Partikeln; erhöhte Aktivität und Mundatmung beim Menschen) führen die Dosismaße „Partikelanzahl“ und auch „Partikeloberfläche“ zur Ausweisung erheblicher Speziesdifferenzen (z.B. werden Faktoren 15 bis 47 über die Modellierung berechnet). Es ist zu beachten, dass meist nicht alle (möglicherweise relevanten) Dosismaße im verfügbaren Protokoll zum Tierexperiment berichtet sind und dass das MPPD-Modell in der uns vorliegenden Version mit Oberflächen- oder Volumenangaben nicht rechnen kann.

Einfluss der Clearance (retinierte Dosis) bei schwer löslichen Stäuben

Schwerlösliche Partikel verbleiben beim Menschen wesentlich länger im Alveolarbereich als beim Nager. Es ist unklar, ob die Verarbeitungsmechanismen beim Menschen grundsätzlich besser auf diese verlängerte Verweilzeit angepasst sind oder nicht. Zum Beispiel ist das Makrophagenvolumen beim Menschen absolut und auch relativ größer als bei der Ratte. Bei der Makrophagenclearance von GBS gibt es also Hinweise darauf, dass solche Anpassungen existieren, so dass dann keine oder nur eine geringfügige Speziesdifferenz zu berücksichtigen wäre. Unterstellen wir, dass die längere Verweildauer im Alveolartrakt sich vollständig auf die Effektstärke auswirkt, dann sind die unterschiedlichen Verweildauern im Lungengewebe bei dem Interspezieskorrekturfaktor zu berücksichtigen. Es erscheint aber möglich, dass über die Berücksichtigung der Retention ein überkonservativer Maßstab für den Speziesvergleich gewählt wird. Insbesondere bei der Nutzung des MPPD-Modells kann der Mensch um Größenordnungen empfindlicher als das Versuchstier erscheinen.

Dieses Ergebnis mit der MPPD-Modellierung liegt vor allem an folgenden Faktoren:

- Es erfolgt eine konservative Annahme für die Eliminationshalbwertszeit im langsamen Kompartiment beim Menschen (700 Tage im Vergleich zu anderen Daten, die z.B. für 400 Tage sprechen),
- Bei der (Un-)Löslichkeit von Partikeln wird nicht berücksichtigt, dass bei sehr langen absoluten Verweildauern im Menschen sich mehr Partikel gelöst haben dürften als bei der Ratte mit absolut deutlich kürzerer Verweildauer,
- Die MPPD-Berechnung enthält beim Menschen die Retention im lymphatischen Lungengewebe als kleine, aber relevante Teilmenge, während diese Fraktion möglicherweise bereits den Relevanzbereich in der Lunge verlassen hat.

Dazu gegenläufig wird im MPPD-Modell angenommen, dass bei der Ratte eine Clearance-Beeinträchtigung durch einen Überladungseffekt schon ab sehr niedrigen Dosierungen auftritt.

Alle diese Annahmen sind unsicher und führen im Saldo zu einer sehr konservativen Abschätzung der retinierten Dosis beim Menschen und damit zu einer weit tieferen humanäquivalenten Dosis im Vergleich zur Ratte.

Für den Alveolarbereich gibt es Berechnungsansätze für die retinierte Dosis, die eine konstante durchschnittliche Eliminationsrate mit nur 1 Kompartiment für Mensch und Ratte berechnen und damit weniger genau erscheinen als der MPPD-Ansatz. Angesichts der beschriebenen Unsicherheiten bei genaueren Kalkulationen scheint diese verkürzte Berechnung jedoch sinnvoll und hinreichend konservativ. Es ist zu beachten, dass damit ein spezieller Bezug auf andere Kompartimente (Tracheobronchialbereich, Lymphatischer Bereich) nicht möglich ist.

Die genannten Unsicherheiten führen jedoch dazu, dass die berechnete retinierte Dosis nur als grobes und konservatives Maß einzuordnen ist.

Einfluss der Clearance (retinierte Dosis) bei gut löslichen Stäuben

Derzeit wird oft vereinfacht angenommen, dass lösliche Stäube umgehend aus dem Alveolarbereich eliminiert werden oder dass zumindest die mit der unterschiedlichen Clearance verbundenen Speziesdifferenzen aufgrund der langen Retentionszeiten von schwer löslichen Stäuben beim Menschen für lösliche Stäube entfallen. Nicht nur das Beispiel von Cadmiumchlorid belegt jedoch, dass auch bei besser löslichen Substanzen speziesspezifische Unterschiede in der Clearance auftreten. Unsere Auswertung zeigte, dass auch andere besser lösliche Substanzen z.B. über Proteinbindung im Alveolarbereich verbleiben können. Sofern die Elimination der entstehenden Komplexe auch über die Makrophagen erfolgt, sind ebenfalls Speziesunterschiede trotz besserer Löslichkeit zu erwarten. Es ist jedoch möglich, dass die Bindung löslicher Stoffe an Proteine auch bereits deren toxikologisches Wirkungspotential verändert (z.B. wird die Bindung von Metallen an Metallothionein oft als Schutzmechanismus für die Zelle interpretiert), so dass im Saldo die Auswirkungen der Proteinbindung von löslichen Verbindungen schwer zu bewerten ist. Der Retentionsfaktor sollte – soweit er berücksichtigt wird – ein reiner Kinetikfaktor sein.

Bisher wird die Unterscheidung in „schwer löslich“ bzw. „löslich“ ohne Zwischenschritte vorgenommen, d.h., die Clearance wird bei schwer löslichen Stoffen im Inter-speziesvergleich berücksichtigt, bei anderen nicht. Zumindest bei mittleren Löslichkeiten ist jedoch anzunehmen, dass beides auftritt, eine „dissolution clearance“ und eine „mechanical clearance“, wobei die „mechanical clearance“ noch immer die stärkeren Speziesdifferenzen enthält, wie sie für schwer lösliche Substanzen angenommen werden.

Partikelgrößenverteilung

Die im Tierexperiment verwendete Partikelgrößenverteilung entspricht oft nicht der am Arbeitsplatz auftretenden Zusammensetzung der Partikel. Deshalb wird in der Literatur vorgeschlagen, der unterschiedlichen Partikelgrößenverteilung über einen entsprechenden Korrekturfaktor Rechnung zu tragen. Bei diesem Ansatz wird die bestehende Ungenauigkeit durch eine neue Unsicherheit ersetzt: es wird damit nämlich zur Voraussetzung gemacht, dass alle zurzeit bestehenden und künftig möglichen Partikelgrößenverteilungen am Arbeitsplatz für die betreffende Substanz bekannt und bei solchen Korrekturfaktoren angemessen berücksichtigt sind. Für eine Substanz würden sich je nach tatsächlichem Expositionsprofil unterschiedliche Arbeitsplatzgrenzwerte ergeben. Dieses Vorgehen wird daher als nicht angemessen handhabbar eingeordnet.

Stattdessen sollte in der Regel die Originalpartikelverteilung aus dem Tierexperiment als Ausgangsbasis für die Ermittlung der humanäquivalenten Konzentration herangezogen werden. Es ist dann transparent zu machen, dass für eine realistische Gefährdungsabschätzung je nach Partikelgrößenzusammensetzung abweichende Partikeldeposition und –retention auftreten können, die ein verändertes Gesundheitsrisiko beinhalten können. Die Unsicherheit ist auszuweisen.

Insbesondere dann, wenn im Tierexperiment Partikelverteilungen eingesetzt werden, bei denen begründet von einer Risikounterschätzung ausgegangen werden muss (zum Beispiel: monodisperse Verbindungen, die so nicht bei der Humanexposition

erwartet werden), so wäre auf diesem Umstand hinzuweisen und dem ggfls. jenseits des Standardvorgehens Rechnung zu tragen.

Overload

Im Tierexperiment kann leichter als beim Menschen ein Überladungseffekt in der Lunge auftreten, die Clearance beeinträchtigen und zu nichtkanzerogenen und kanzerogenen Effekten führen.

Handelt es sich um „reine“ Overloadeffekte, so sind Beobachtungen im entsprechenden Konzentrationsbereich aus dem Tierexperiment für die quantitative Bewertung von Effekten nicht verwendbar. Für die Bewertung ist dann von dem Konzept auszugehen, wie es von Seiten der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) für GBS erarbeitet wurde. Hier kann stoffunabhängig ein allgemeingültiger Schwellenwert über das HEC-Konzept begründet werden. Gegen einen reinen Overloadeffekt sprechen biologische Wirkungen, wenn diese bei oder unterhalb des GBS-Schwellenwerts vorgefunden werden.

Liegen in höheren Konzentrationen Effektbeobachtungen vor, bei denen ein wesentlicher Overload-Effekt auszuschließen ist, so können die Daten für den Speziesvergleich herangezogen werden. Ist dabei die Clearance im Tierversuch beeinträchtigt (in diesem Falle nicht durch den unspezifischen Overload-Effekt, sondern durch stoffspezifische Beeinträchtigung), so wird daraus keine Veränderung der Speziesdifferenzen abgeleitet: entsprechende Effekte im höheren Konzentrationsbereich werden ohne zusätzliche Korrektur auf den Menschen übertragen.

Liegen in höheren Konzentrationen Effektbeobachtungen vor, bei denen ein Overload-Effekt als Teilursache angesehen wird, so können die Daten mit größerer Unsicherheit für eine quantitative Bewertung herangezogen werden, wobei bewusst ist, dass auf Basis der tierexperimentellen Daten eine gewisse Risikoüberschätzung für den Menschen erfolgt. Dem kann nur außerhalb des Standardverfahrens Rechnung getragen werden.

Schlussfolgerungen zur Anwendung von Dosimetriemodellen bei lokal wirkenden Aerosolen und Partikeln

Die Ausführungen haben gezeigt, dass die Grundhypothese des Speziesvergleichs: „Gleiche Dosis führt in zwei Spezies zu gleicher Wirkung“ nur größenordnungsmäßig bestätigt werden kann. Eindeutige relative Unterschiede in der Toxikokinetik, durch deren Berücksichtigung der Speziesvergleich verbessert wird, sollten in der Speziesextrapolation berücksichtigt werden. Es zeigt sich aber, dass alle dosimetrischen Berechnungen erhebliche Unsicherheiten und/oder Ungenauigkeiten beinhalten:

- Tumortypen und Tumorlokalisationen unterscheiden sich teilweise im Speziesvergleich (und damit auch das jeweils relevante Zielgewebe),
- mehrere Normalisierungsmaße sind möglich, die zu Unterschieden im Inter-speziesvergleich von bis zu einer Größenordnung führen können,
- insbesondere die unterschiedliche regionale Deposition (zentral oder peripher, obere oder mittlere oder untere Lungenlappen, bei Bifurkationen oder homo-

gener über die Alveolaroberfläche verteilt) führen zu gravierenden Unsicherheiten im Vergleich zu (üblicherweise für Speziesvergleiche verwendeten) Durchschnittswerten,

- mehrere Dosismaße sind möglich und begründbar, stehen jedoch im Regelfall nicht alle zur Auswahl zur Verfügung. Unzureichende Kenntnisse zum Mechanismus erschweren zudem die Auswahl eines korrekten Dosismaßes,
- es ist unklar, ob die unterschiedliche Clearancedauer im Alveolarbereich bereits durch speziespezifische biologische Anpassungsmechanismen abgedeckt sind, oder ob die Unterschiede in der Clearance vollständig beim Interspeziesvergleich berücksichtigt werden müssen,
- je nach Dosimetriemodell und Datensatz ergeben sich deutliche zahlenmäßige Unterschiede in den resultierenden Clearanceunterschieden, die nicht eindeutig zugunsten des einen oder anderen Quantifizierungsansatzes entschieden werden können,
- bei löslichen Partikeln finden ebenfalls Depositionen und Komplexbindungen im Alveolarbereich statt, die zur Verlängerung der Clearance und möglicherweise zu Speziesdifferenzen in der Clearance führen können,
- die Exposition des Menschen findet in der Regel nicht gegenüber Partikeln in der identischen Größenverteilung statt wie sie im Tierversuch vorliegt. Die sich ergebenden Unterschiede können sich relevant auf Deposition und Retention auswirken,
- Speziesdifferenzen in der Ausbildung und Folgewirkung von Overloadprozessen können den Speziesvergleich beeinflussen und sind bei zugleich toxischen Stoffen nur ungenau abgrenzbar.

Alle die genannten Faktoren erschweren somit auch den Einsatz von Dosimetriemodellen für relative Aussagen im Speziesvergleich und führen dazu, dass berechnete Ergebnisse meist als scheinbar genau zu bewerten sind.

Vor diesem Hintergrund wird vorgeschlagen, das HEC-Konzept im Regelfall konservativ und pauschal zu berücksichtigen, ohne eine mechanistisch korrekte Interpretation zu postulieren, wenn diese nicht im Einzelfall (jenseits des Defaultansatzes) mit qualifizierten Daten untermauert werden kann. Beim vorgeschlagenen Standardverfahren wird bewusst toleriert, dass mechanistisch möglicherweise nicht optimal begründbare Annahmen herangezogen werden, die ihre Berechtigung überwiegend wegen ihrem konservativen Charakter haben und die die grundsätzliche Unsicherheit bei dem Interspeziesvergleich reflektieren.

Schlussfolgerungen für den Leitfaden für kanzerogene Stoffe

Diese Defaultannahmen sind – wie folgt – gekennzeichnet:

- Berechnung der deponierten Fraktion (DF) in Tracheobronchial- und Alveolar-Bereich (gesamt) mittels MPPD-Modell (DF_T / DF_H) für Ratte und Mensch

- Übernahme der Standardeinstellungen im MPPD-Modell zur Ratte und beim Menschen, beim Menschen jedoch mit der Charakterisierung „leichte Aktivität“ sowie gemischte Mund- und Nasenatmung.
- Auswahl der Partikelmasse (Gewichtung mit Dichte) als Dosismaß (Übernahme der Daten aus dem Tierexperiment)
- Normalisierung (NF) auf die Alveolaroberfläche plus Tracheobronchialoberfläche bei Ratte und Mensch ohne regionale Differenzierung mit einem Faktor von 150((NF_H/NF_T); ohne Differenzierung nach Rattenstamm)
- Für schwer lösliche Substanzen (bis 100 mg/L Löslichkeit bei 20°C) Verwendung eines Interspeziesfaktors zur Eliminationsrate (ELR) in Höhe von 0,15 ((ELR_H/ ELR_T); ohne Differenzierung nach Rattenstamm und Expositionsdauer)
- Für Stoffe mit mittlerer Löslichkeit (>100 mg/L bis 10 g/L) Verwendung eines ca. halbierten Faktors zur relativen Eliminationsrate(ELR_H/ ELR_T) in Höhe von 0,3 (ohne Differenzierung nach Rattenstamm und Expositionsdauer)
- Für Stoffe mit sehr guter Löslichkeit (>10 g/L) entfällt der Faktor zur relativen Eliminationsrate
- Das Atemvolumen (AV) von Ratte und Mensch pro Tag wird über Aktivität und Expositionszeit/Tag gewichtet:(AgV_T/AgV_H) und ein entsprechender Faktor für den Speziesvergleich zugewiesen: 0,008. Dieser Faktor beinhaltet bereits die Korrektur um 6 bzw. 8 Stunden Exposition/ Tag und intermittierende Exposition über das Jahr
- Aus den oben genannten Faktoren wird ein Faktor HEC/C_T berechnet mit: $HEC/C_T = AgV_T / AgV_H \times NF_H / NF_T \times ELR_H / ELR_T \times (DF_T / DF_H)$ oder $HEC/C_T = 0,008 \times 150 \times 0,15 \times (DF_T / DF_H) = 0,18 \times (DF_T / DF_H)$ für schwer lösliche Stäube, mit $0,008 \times 150 \times 0,3 \times (DF_T / DF_H) = 0,36 \times (DF_T / DF_H)$ für mittellösliche Stäube und mit $0,008 \times 150 \times (DF_T / DF_H) = 1,2 \times (DF_T / DF_H)$ für sehr gut lösliche Stäube.
- Liegt der so berechnete Wert HEC/C_T bei einem Wert > 1, so ist in der Regel der Wert HEC/C_T = 1 anzunehmen, wenn nicht durch zusätzliche experimentelle Daten oder sonstige Evidenz begründet werden kann, dass bei dieser Substanz der Mensch tatsächlich gegenüber einer kleineren Dosis exponiert ist als das Versuchstier, wobei zu dokumentieren ist, dass diese Dosis mit (ggfls. abweichend) gewählttem Dosismaß und (ggfls. abweichend) gewählter Normalisierung für die Interpretation des Befundes angemessen geeignet ist.

Schlussfolgerungen für den Leitfaden für nichtkanzerogene Stoffe (AGW-Konzept)

Es gelten die gleichen Defaultannahmen wie für krebserzeugende Wirkung. Es ist jedoch zu erwarten, dass Abweichungen vom Default eher begründet zu vertreten

sind, z.B. können Wirkungen leichter nur dem AV- oder nur dem TB-Bereich zugeordnet werden (besser begründete Abweichung in der Normalisierung) oder es kann klarer unterscheidbar sein, ob die deponierte oder die retinierte Konzentration wirksam ist (z.B. wird bei Effekten durch lösliche Substanzen, die bereits bei akuter Exposition wirksam sind, die deponierte Dosis statt der retinierten begründet anwendbar sein).

2 Hintergrund und Aufgabenstellung

Im Jahr 1994 führte die US EPA als erste Institution dosimetrische Betrachtungen als Bestandteil der Interspeziesextrapolation bei der toxikologischen Bewertung von partikulären Noxen ein (EPA, 1994). Mit dieser Methodik der Berechnung einer human-äquivalenten Dosis (HEC, „human equivalent concentration“) sollen auf quantitative Weise Unterschiede in der Deposition von Stäuben bei Versuchstieren und beim Menschen berücksichtigt werden. Für die Unterschiede zwischen den Spezies sind physiologische und anatomische Gründe anzuführen. Dieses methodische Konzept, das Unterschiede zwischen den Spezies bezüglich der Clearance (noch) nicht berücksichtigt, wurde im Rahmen des Forschungsvorhabens Fb 862 der BAuA bereits diskutiert (Kalberlah et al., 1999).

Ein mit der Methodik parallel entwickeltes Programm zur Berechnung der Verhältniszahlen der Deposition zwischen den Spezies (RDDR software, „regional deposited dose ratio“) wurde offensichtlich nicht weiterentwickelt. Hingegen ist ein analoges, von CIIT (jetzt: Hamner Institutes for Health Sciences) und dem niederländischen RIVM entwickeltes Programm frei verfügbar, das „Multiple Path Particle Dosimetry Model“ (MPPD model) (Anjilvel and Asgharian, 1995). Dieses Modell berücksichtigt auch Unterschiede in der Clearance.

In den Leitfäden des AGS zur Ableitung von Expositions-Risikobeziehungen (ERB) und zur Ableitung von Arbeitsplatzgrenzwerten (BekGs 910 und BekGs 901) ist bei der Verwendung von tierexperimentellen Daten für systemisch wirkende Kanzerogenen ein allometrisches Scaling nach kalorischem Grundumsatz vorgesehen. Eine explizite Methodik zur Interspeziesextrapolation bei lokal wirkenden Inhalationskanzerogenen, insbesondere staubförmige Noxen, ist nicht enthalten.

Dieses Projekt hat zum Ziel

- *die biologische Plausibilität verschiedener Dosisdefinitionen im Interspeziesvergleich zu diskutieren,*
- *die Wahl von Eingangsparametern zu diskutieren und zu begründen,*
- *den Entwicklungsstand von Dosimetriemodellen für die Interspeziesextrapolation bei der toxikologischen Bewertung von Stäuben zusammenzufassen,*
- *eine Anleitung zur Interspeziesextrapolation bei Stäuben und Aerosolen im Rahmen der Ableitung von Exposition-Risikobeziehungen für Kanzerogene und/oder Arbeitsplatzgrenzwerten zu geben.*

Die Ausarbeitung ist beschränkt auf dosimetrische Betrachtungen zu Partikeln im unteren Bereich des Atemtraktes (TB und PU). Gase und Fasern werden nicht behandelt. Auf die Besonderheiten von Nanopartikeln im Speziellen wird nicht eingegangen.

3 Ausgangsbasis: Tierstudien als Basis der Bewertung von Langzeiteffekten von inhalierten Aerosolen und Partikeln

Dosimetriemodelle behandeln nur den toxikokinetischen Teilaspekt der Übertragung von Versuchstierdaten (hier aus Inhalationsstudien mit Stäuben) auf den Menschen. Sie dienen der Berücksichtigung von Unterschieden in der Zielgewebsdosis und behandeln nicht toxikodynamische oder sonstige grundsätzliche Unterschiede in der Empfindlichkeit zwischen Tier und Mensch.

Die Angemessenheit dosimetrischer Korrekturen sollte allerdings im Licht der möglichen quantitativen Unterschiede in der Dosis zwischen den Spezies im Vergleich zu generellen Unsicherheiten der Übertragung von Inhalationsdaten vom Tier auf den Menschen diskutiert werden. Insbesondere bei krebserzeugender Wirkung ist die Hypothese, dass das Versuchstier eine gleiche Empfindlichkeit wie der Mensch besitzt, zu überprüfen. Auch in Hinblick auf andere Parameter einer dosimetrischen Umrechnung ist es erforderlich, die Unsicherheiten darzustellen, die mit der Übertragung verbunden ist.

Eine solche Analyse erlaubt die Einordnung der schließlich vorzuschlagenden Default-Vorgehensweise: ist der Default mit hohen Unsicherheiten verknüpft, dann ist möglicherweise ein isoliertes Detailwissen zu einem Einzelschritt der Abschätzungen zum Speziesvergleich anders zu bewerten, als wenn dieses Detailwissen in dem Gesamtrahmen eines auch quantitativ gut abgesicherten Extrapolationsverfahrens einzuordnen ist.

Bei der Berechnung einer humanäquivalenten Konzentration (HEC) für Stäube oder Aerosole im unteren Atemtrakt wird für die im Tierexperiment verwendete Konzentration im Medium (Luft) aufgrund weitgehend bekannter Parameter zur Atemtraktphysiologie und Atemminutenvolumen bei der getesteten Spezies mittels dosimetrischer Überlegungen zunächst eine deponierte Fraktion (meist Massen-% oder Anzahl Partikel-%) im Zielgewebe errechnet. Im Folgeschritt wird in Hinblick auf chronische Wirkungen die retinierte Masse ermittelt, indem die Clearance im Zielgewebe über die Zeit berücksichtigt wird. Es ergibt sich als interessierende Größe eine retinierte Dosis im Zielgewebe, die als möglicherweise biologisch relevant erachtet wird.

Nun wird angenommen, dass bei identischer retinierter Dosis im Standardfall diese biologische Wirkung einer Schadstoffexposition für Mensch und Tier identisch ist: die gleiche Wirkdosis führt zu identischen Effektausprägungen (qualitativ und quantitativ). Um die Konzentration im Medium (Luft; also z.B. am Arbeitsplatz) angeben zu können, müssen also beim Menschen die speziesspezifischen Faktoren ebenso berücksichtigt und von der (wirkungsgleichen) retinierten Dosis ausgehend rückgerechnet werden. Die Clearance des Menschen aus dem Zielgewebe über die Zeit, die Atemfrequenz, das Atemminutenvolumen und die Atemwegsphysiologie des Menschen sind somit ebenso wie beim Versuchstier zu berücksichtigen. Ist dies geschehen, gelangt man zur gesuchten HEC.

Formal lassen sich die Zusammenhänge – wie folgt – beschreiben:

Mit Hilfe der Dosimetrie erfolgt eine Korrektur der (abgeschätzten oder beobachteten) Konzentration ohne nachteilige Effekte ($NOAEC_T$) auf eine entsprechende Konzentration beim Menschen ($NOAEC_{HEC}$):

$$NOAEC_{HEC} = NOAEC_T \times DAF$$

wobei

- $NOAEC_{HEC}$ = Expositionskonzentration (in mg/m^3), die zu einer äquivalenten Zielgewebkonzentration führt (humanäquivalente Konzentration)
- $NOAEC_T$ = im Tierversuch ermittelte Ausgangskonzentration und
- DAF = Dosimetrieanpassungsfaktor.

Zusätzlich kann ein Zeitanpassungsfaktor berücksichtigt werden.

In dieser Formel wird eine Wirkung ohne nachteilige adverse Effekte (NOAEC) betrachtet – der Vergleich kann aber auch für andere definierte Effektkonzentrationen durchgeführt werden, zum Beispiel auch für Benchmarkkonzentrationen (BMC_{10}), wie sich dies bei krebserzeugender Wirkung anbieten könnte.

Nach der von der EPA entwickelten Methodik (EPA, 1994; Jarabek et al., 2005) lässt sich dabei der Dosimetrieanpassungsfaktor nach folgender Formel berechnen:

$$DAF = \frac{AMV_T}{AMV_H} \times \frac{DA_T}{DA_H} \times \frac{NF_H}{NF_T}$$

wobei

- AMV_T bzw. AMV_H = Atemminutenvolumen von Versuchstier und Mensch
- DF_T bzw. DF_H = Depositionsanteil (Anteil der inhalieren Partikelmenge, der in einer bestimmten Region des Atemtraktes deponiert wird) bei Versuchstier und Mensch
- NF_H bzw. NF_T = Normalisierungsfaktor bei Mensch und Tier (z.B. bei Normalisierung auf die Oberfläche des Zielortes: Verhältnis der Oberfläche der jeweiligen Zielregion des Atemtraktes beim Menschen zu der beim Versuchstier).

Für die Berechnung der retinierten Dosis durch die zusätzliche Berücksichtigung der jeweiligen Clearance ist der Dosiemetrieanpassungsfaktor zu erweitern, wobei die jeweiligen Modelle die Clearance in unterschiedlicher Weise einberechnen (vgl. Abschnitt 4.6.2).

Die folgende schematische Abbildung 3-1 verdeutlicht diese Schritte der Berechnung und die postulierten Zusammenhänge. Dabei wird jedoch zugleich an mehreren Stellen ein Merker (=?) in die Abbildung eingefügt, wo diese Zusammenhänge besonders unklar sind, wo die gewählten Setzungen zumindest quantitativ nur eine sehr unsichere Aussage darstellen und wo deshalb die vorgenommene Gleichsetzung oder Umrechnung im Speziesvergleich zu überprüfen ist:

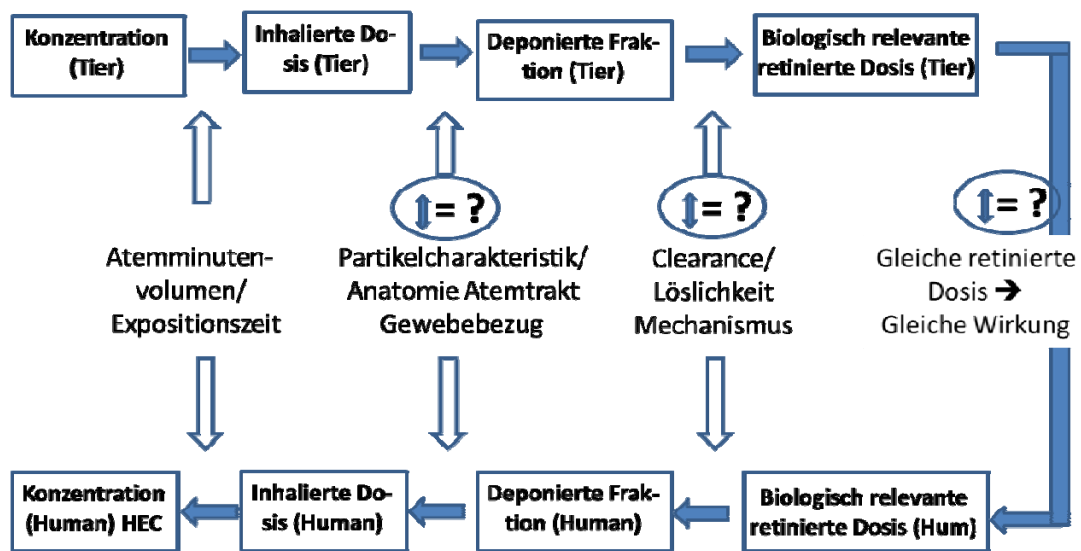


Abbildung 3-1: Schematischer Ablauf der HEC-Berechnung aus tierexperimentellen Daten und prinzipielle Unsicherheiten

Der dargestellte dosimetrische Vergleich enthält demnach eine Reihe von wichtigen Voraussetzungen und erfordert Konkretisierungen, auf die besonders hinzuweisen ist:

- Bei gleicher Dosis im Zielgewebe bei Mensch und Tier wird im Standardfall eine qualitativ und quantitativ gleiche Wirkung angenommen.
- Es wird vorausgesetzt, dass für die beiden Spezies, für die der Vergleich durchgeführt wird, das identische Organ/ Zielgewebe betroffen ist.
- In der Formel wird nicht genau spezifiziert, welches Dosismaß herangezogen werden soll. Dieses kann zum Beispiel sein: die Partikelmasse, die Partikeloberfläche, das Partikelvolumen, oder die Partikelanzahl. Sollten – je nach Dosismaß – sich andere Speziesunterschiede ergeben, wäre eine Diskussion zur Eignung des Maßes und eine Konkretisierung für die Vorgehensweise erforderlich.
- In der Formel wird nicht genau spezifiziert, welche *Normalisierung* erfolgen soll, also: auf welches Zielgewebe mit welcher Maßeinheit die Dosis zu beziehen ist. Diese Normalisierung kann zum Beispiel sein: das Lungengewicht, die Lungenoberfläche, das Lungenvolumen, die Anzahl der Alveolarzellen, die Anzahl oder das Volumen der Makrophagen. Wenn sich im Speziesvergleich jeweils andere Dosen ergeben, stellt diese Normalisierung eine wichtige, aber möglicherweise unsichere Stellgröße dar, zu der Vorgaben erforderlich sind.

- Partikel oder Aerosole werden insbesondere über die Clearance aus dem Zielgewebe eliminiert. Dabei liegen Speziesunterschiede vor, die auch davon abhängen, welche Kompartimente bei der Clearance einbezogen werden, welche Daten zur Clearance-Halbwertszeit im Speziesunterschied berücksichtigt werden, welcher absolute oder relative Gesamtzeitraum betrachtet wird und wie die Löslichkeit der Partikel in diese Analyse eingeht. Eine Diskussion der Unsicherheit und eine Maßgabe zur Vorgehensweise sind erforderlich.
- Die Zusammensetzung der Partikel (monodispers, polydispers; Größenverteilung) des Menschen könnte sich von dem im Tierexperiment verwendeten Partikelprofil unterscheiden. Aussagen zur biologischen Wirkung liegen bei toxikologischen Betrachtungen jedoch nur für das im Tierexperiment verwendete Partikelprofil vor. Sollten die Speziesdifferenzen mit der Partikelzusammensetzung variieren (anderes Depositionsverhalten, andere Clearance, andere geeignete Dosismaße, andere geeignete Normalisierung, andere biologische Wirkung), wäre hiermit eine relevante Unsicherheit verbunden. Eine Vorgehensweise ist festzulegen.
- Im Tierexperiment wird häufiger ein sogenannter „overload“-Effekt beobachtet, der auf einer Beeinträchtigung der alveolären Clearance in der Versuchstierspezies durch einen unspezifischen Partikeleffekt (Makrophagenüberladung) beruht. Es wird in der Regel unterstellt, dass ein solcher Overload bei der niedrigeren Lungenbeladung des Menschen bei üblicher (auch beruflicher) Partikelexposition keine Rolle spielt. Es ergeben sich relevante Unsicherheiten, wenn das Ausmaß dieses Overload im Tierexperiment nicht eindeutig zu erfassen ist und nicht kalkulatorisch in die Umrechnungen einbezogen werden kann. Die Nebenbedingungen der Dosisumrechnung in Bezug auf den „overload“-Effekt sind zu konkretisieren.

Im folgenden Abschnitt 4 werden die einzelnen Elemente für den dosimetrischen Vergleich zusammen mit ihren Unsicherheiten im Einzelnen beschrieben. Es werden schließlich Vorschläge gemacht, welche Konsequenzen für die Dosisdefinition im Interspeziesvergleich zu ziehen sind und wie mit den Unsicherheiten umgegangen werden soll.

4 Dosimetrie bei Partikeln und Aerosolen im unteren Atemtrakt – quantitative Zusammenhänge und Unsicherheiten

4.1 Gleiche Dosis – gleiche Wirkung?

4.1.1 Kanzerogene Substanzen (Allgemeine Betrachtung)

Einfache biologische Kenntnisse zum Krebsmechanismus widersprechen der Vorstellung, dass die gleiche Dosis in verschiedenen Spezies zur gleichen Wirkung führen würde. Wird etwa angenommen, dass jede Zelle in einem Organismus oder in einem Organ (über genetische oder epigenetische Mechanismen) transformiert und zur Tumorzelle werden kann, so müsste – gleiche Dosis eines einwirkenden Agens/Zelle vorausgesetzt – ein größerer Organismus, der mehr Zellen aufweist, mit erheblich höherer Wahrscheinlichkeit Tumoren bilden können. *„A medium-sized dog is about 1000 times larger than a mouse, a human 3000 times larger and a blue whale 6 million times larger. If the probability of a cell becoming cancerous was the same in all of these species, then, ignoring stem-cell dynamics and longevity, the larger species should have a proportionately higher cancer rate.“* (Leroi et al., 2003). Der Mensch müsste also weit häufiger an Krebs erkranken als die Maus. Vgl. hierzu auch die Überlegungen von Roller et al. (2006).

Auch durch die weit höhere Lebenserwartung (in absoluter Zeit) wäre bei je lebenslanger Exposition beim Menschen die Chance viel größer, dass eine identische tägliche Exposition zum Tumor führt als bei der relativ kurzlebigen Maus. Wiederum vereinfacht gilt, dass größere Organismen eine längere Lebenserwartung haben als kleinere (Caulin and Maley, 2011; Speakman, 2005).

Diese beschriebene biologische Vorstellung stimmt allerdings nicht mit der Beobachtung überein. Ein Elefant oder ein Blauwal oder der Mensch erkranken nicht wesentlich häufiger an Krebs als eine Maus – die Unterschiede liegen offensichtlich bei deutlich weniger als einer Größenordnung. Nach einzelnen Autoren variiert die Hintergrundrate (spontane Tumoren) bei wildlebenden Säugern nur etwa um einen Faktor 2 (Leroi et al., 2003). Zu beachten ist bei solchen Zahlen, dass hier natürlich keine toxikokinetischen Korrekturfaktoren eingehen, sondern die identische äußere Exposition gegenüber Xenobiotika besteht.

Dieser Widerspruch zwischen der Erwartung (Vorstellungen zum Krebsmechanismus, Hochrechnung z.B. auf Basis von jeweiliger Zellzahl oder Organengewichte oder Organoberfläche) und der Beobachtung (keine gravierenden Differenzen bei annähernd gleicher Dosis) ist seit langem bekannt und wird als „Peto’s Paradox“ bezeichnet (Caulin and Maley, 2011), nachdem bereits Sir Richard Peto (1975) das Problem beschrieben hatte.

Auch heute ist dieses Phänomen nicht gänzlich verstanden. Nachdem die Mutationsrate in der Zelle bei Maus und Mensch bei identischem Zelltyp etwa gleich zu sein scheint, muss die ähnliche Empfindlichkeit überwiegend andere Gründe haben. Caulin und Maley (2011) diskutieren hierzu:

- Menschliche Zellen könnten mehr Mutationen/ Zelle benötigen, um in Krebszellen verwandelt zu werden.
- Zum Beispiel könnte es erforderlich sein, dass beim Mensch in der Zelle mehrere Tumorsuppressorgene im Vergleich zur Maus gleichzeitig ausgeschaltet sein müssen, um zu Krebs zu führen (vgl. hierzu auch Leroi et al. (2003).
- Eine andere Möglichkeit wäre, dass beim Menschen einige Protoonkogene eine geringere Bedeutung haben (und keine Tumorsuppressorgene ausschalten können) als in kleineren Spezies.
- Der Selektionsvorteil mutierter Zellen könnte bei der Maus höher sein als im Menschen.
- Ausdifferenzierte Zellen stellen eine evolutionäre Sackgasse dar. Während Mutationen in weniger differenzierten Zellen auch gewünscht sind (evolutionäre Entwicklung), könnte sich dies so auswirken, dass bestimmte ausdifferenzierte Zelllinien (die beim Menschen weit höheren Anteil als bei der Maus haben), weniger anfällig für mutagene Ereignisse sind.
- Große, langlebige Organismen könnten eine weit bessere immunologische Überwachung für neoplastische Zellen besitzen als dies bei kleinen Lebewesen der Fall ist.
- Apoptoseneigung und –effizienz könnten sich zwischen den Spezies unterscheiden.
- Die Zellproliferationsneigung über Zellkontaktinhibition ist in verschiedenen Spezies unterschiedlich.
- Die Telomerlänge der DNA, die für die Stabilität der Chromosomen eine wesentliche Rolle spielt, könnte sich in größeren Lebewesen deutlich von derjenigen kleinerer Tiere unterscheiden.
- Die basale metabolische Rate korreliert mit dem Ausmaß oxidativer Schädigung in der Zelle und ist umgekehrt proportional zur Körpermasse (massenspezifische BMR proportional zu Körpermasse^{-1/4}).

Diese Auflistung ist nicht vollständig und enthält einerseits spekulative Elemente, andererseits aber auch experimentell gestützte Beobachtungen im Interspeziesvergleich.

Einige Autoren benennen diese (möglichen oder belegten) Speziesdifferenzen als Korrekturfaktoren, wobei die Aussage weiterhin im Vordergrund bleibt: der Mensch müsste „*eigentlich*“ viel empfindlicher als das Versuchstier hinsichtlich krebserzeugenden Substanzen sein als das Versuchstier und deshalb die Beobachtungen als Paradox eingeordnet werden.

Uns scheint es jedoch angemessener, das komplexe Gesamtsystem der Kanzerogenese als Regelkreis mit zahlreichen teilweise gegenläufigen Faktoren zu verstehen,

- die sich jedoch qualitativ und quantitativ zwischen den Spezies deutlich unterscheiden,
- deren Wichtigkeit je Einzelfaktor nicht bekannt ist,

- die im Saldo jedoch nicht auf gravierende Speziesdifferenzen in der Empfindlichkeit gegenüber Krebs hinweisen (das schließt nicht aus, dass bei einzelnen Krebsarten gravierende quantitative Speziesdifferenzen bestehen).

Insbesondere kann nicht davon ausgegangen werden, dass alle Zellen eines Organs gleichempfindlich gegenüber einer möglichen Transformation zur Krebszelle wären.

Daraus ergeben sich wichtige Schlussfolgerungen für den HEC-Ansatz:

- die grundsätzliche Aussage gleicher Empfindlichkeit für eine krebserzeugende Wirkung bei gleicher Dosis im Interspeziesvergleich kann aufrechterhalten werden, weil für den Standardfall auf Basis der (beschränkten) Erfahrung keine gravierend davon abweichenden Beobachtungen existieren;
- im Gegenteil: massive Abweichungen von der Gleichempfindlichkeit, wie sie auf Basis des Körpergrößenvergleichs oder der Langlebigkeit anzunehmen wären, treffen auf Basis ungefährer Beobachtungen zur Hintergrundrate des Krebsgeschehens in verschiedenen Spezies nicht zu;
- allerdings sind die einzelnen Faktoren (Stellgrößen im Regelkreis), die zur (etwa) Gleichempfindlichkeit gegenüber Krebs führen, weder qualitativ noch quantitativ für die einzelne Spezies ausreichend verstanden, um Änderungen bei einem oder einigen dieser Faktoren mit ihrer Funktion auf den Speziesvergleich hinreichend interpretieren zu können: es sollte zum Beispiel nicht behauptet werden, dass der Unterschied in der kanzerogenen Potenz zwischen Spezies 1 und Spezies 2 größer ist als im Default, weil zum Beispiel in Spezies 1 eine Inhibition der Tumorsuppression über Trp53 belegt sei, in Spezies 2 jedoch diese Inhibition nicht stattfindet.
- Die Annahme der Gleichempfindlichkeit der Spezies ist auch als „Mittelwertaussage“ sehr unsicher. Ein Unsicherheitsfaktor von z.B. einer Größenordnung muss grundsätzlich auch im Durchschnitt als offene Möglichkeit angenommen werden, wobei der Vergleich auch substanzspezifisch (kanzerogenes Agens) und in Abhängigkeit von Tumorlokalisierung und getesteten Stamm variiert. Die wenigen gesicherten Datenpaare, bei denen sowohl Informationen zum Versuchstier wie zum Mensch direkt vorliegen, reichen nicht aus, um die Bandbreite der tatsächlichen Unsicherheit näher zu charakterisieren.

4.1.2 Kanzerogene Substanzen (Lungentumoren)

Eine Arbeit von Roller et al. (2006) zeigte für den Inhalationspfad, dass Tier und Mensch etwa gleiche Empfindlichkeit aufweisen auf Basis der äußeren Belastung (Konzentration von Kanzerogenen in der Umgebungsluft in mg/m³). Vergleichsbasis ist dabei eine kalkulierte Effektkonzentration bei 10% der Exponierten auf Basis der Beobachtungsdaten (ED10). Bei einigen Substanzen erwies sich der Mensch als deutlich empfindlicher. Insgesamt schlussfolgern Roller et al. (2006): *„Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass eine Speziesextrapolation anhand der äquivalenten Exposition ohne besondere Berücksichtigung toxikokinetischer oder toxikodynamischer Speziesunterschiede in der Regel nicht zu einer Überschätzung des Risikos des Menschen führt.“* (vgl. Leitfaden Krebsrisikozahlen, 4.1 (1)).

Roller et al. haben dabei ihre Aussage nicht danach differenziert, ob es sich um systemisch oder lokal wirkende Kanzerogene handelt. In der folgenden Tabelle 4-1 mit Ergebnissen nach Roller et al. (2006) sind die lokal wirkenden Stoffe (Lungentumoren) dargestellt. Es gibt sich (bei dieser notwendigerweise schmalen) Datenbasis das gleiche Bild wie bei systemisch wirkenden Kanzerogenen. Die mittlere Spanne (ED10 (Hum)/ ED10 (Tier)) umfasst eine Größenordnung.

Tabelle 4-1: Risikovergleich: Effektkonzentration bei 10% (Humandaten, Tierexperimentelle Daten) für lokal wirksame krebserzeugende Stoffe (Quelle: Roller et al., (2006))

Stoff[Dosismaß]	ED10 (kalkulierte Effektdosis bei 10% der Exponierten nach Exposition über Arbeitslebenszeit (Mensch) bzw. Lebenszeit (Tier))		Faktor ED10 (Hum) / ED10 (Tier)
	Mensch	Tier	
Asbest [F/ml]	0,6-15	200-1300 Ratte	0,0004 – 0,075
Cadmium [$\mu\text{g}/\text{m}^3$]	20-450	30 Ratte	0,67 - 15
Chrom VI [$\mu\text{g}/\text{m}^3$]	10-130	500 Ratte	0,02 – 0,26
Dieselruß [$\mu\text{g EC}/\text{m}^3$]	30- ∞	6000 Ratte	0,005 - ∞
Kohlenteeraerosol [$\mu\text{g BaP}/\text{m}^3$]	9	50 Ratte	0,18
Nickel (stark wirksame Verbindungen) [$\mu\text{g}/\text{m}^3$]	100-1000	400 Ratte	0,25 – 2,5
Quarz [$\mu\text{g SiO}_2/\text{m}^3$]	200-900	500 Ratte	0,4 – 1,8
Radon [WL]	0,1-2	10-100 Ratte	0,001 – 0,2
Maximalspanne (ohne Dieselruß)			0,0004- 15
Mittlere Spanne (ohne Dieselruß)			0,22 – 2,86

Sanner und Dybing (2005) kommen im Speziesvergleich für auf Basis tierexperimenteller und epidemiologischer Daten für 6 Substanzen nach Umrechnung der Konzentration auf risikoäquivalente Dosen ($\text{mg}/\text{kg} \times \text{d}$) zu einem ähnlichen Ergebnis. Als lokal wirkende Kanzerogene wurden nur Cadmium und Nickel in die Betrachtung einbezogen. Dabei wurde von den Autoren keine Korrektur um Deposition oder Retention berücksichtigt.

Abweichend davon finden Kuempel et al. (2009) für lokal wirkende Stoffe zwar ebenfalls etwa gleiche Empfindlichkeit nach einer Auswertung von tierexperimentellen Datensätzen und von epidemiologischen Daten, jedoch *nach* Berücksichtigung einer dosimetrischen Korrektur mit Normalisierung der retinierten Dosis auf die Lungenoberfläche. Insbesondere bei Quarz konnte hier eine etwa gleiche Risikohöhe für Ratte und Mensch in mehreren Berechnungen ermittelt werden. Aber auch für Titan-dioxid, Carbon black und Kohlenstaub kommen die Autoren zu keinen signifikant unterschiedlichen Risiken zwischen Tier und Mensch, wobei beim Menschen auch die Möglichkeit einbezogen wurde, dass kein erhöhtes Risiko vorliegt (nicht als kanzerogen eingestufte Substanzen). Bei Diesel scheint der Mensch wiederum nach Berücksichtigung der deponierten Dosis empfindlicher als die Ratte.

Im Vergleich dieser Datensätze (Kuempel et al., 2009; Roller et al., 2006; Sanner and Dybing, 2005) kann also nicht eindeutig entschieden werden, ob die zugeführte äußere Belastung das bessere Maß für den Vergleich ist oder die retinierte Dosis nach Normalisierung auf die Lungenoberfläche (für nur dieses Normalisierungsmaß wurde der Vergleich durchgeführt).

4.1.3 Nichtkanzerogene Substanzen

Aussagen zum allometrischen Scaling für systemische Effekte basieren auf Speziesvergleichen in Stoffkinetik und Wirkungsdaten. Danach kann im Mittel eine gleiche Empfindlichkeit von Tier und Mensch bei gleicher Dosis (mg/kg Körpergewicht/ Tag) unterstellt werden, nachdem das Scaling nach Grundumsatz durchgeführt wurde (vgl. (Kalberlah and Schneider, 1998)). Für inhalativ aufgenommene Substanzen bedeutet dies eine gleiche Empfindlichkeit bei gleicher äußerer Exposition (1 ppm in der Luft ergeben für Mensch und Tier die gleiche innere Exposition in mg/kg Körpergewicht und Tag). Allerdings ist es auch bei systemischen Effekten üblich, zusätzlich zum Scaling die jeweilige speziesspezifische Resorption zu berücksichtigen, so dass im Default erst nach Korrektur über Scaling und Resorption von gleicher biologischer Wirkung bei gleicher Dosis ausgegangen wird.

Diese gängige Annahme in der regulatorischen Toxikologie ist für systemische Effekte gut durch umfangreiche statistische Daten gestützt (vgl. z.B. Kalberlah et al. (1998)). Dennoch muss auch hier betont werden, dass es sich um eine Standardannahme handelt, die im Einzelfall (einzelner Endpunkt, einzelne Substanz, einzelner Stamm oder Spezies) unzutreffend sein kann. Die Normalisierung der Dosis auf das Körpergewicht stellt aus biologischem Blickwinkel offenkundig eine Vereinfachung dar.

Dennoch scheint für nichtkanzerogene Effekte die Unterstellung gleicher Empfindlichkeit bei gleicher Dosis auch biologisch besser gestützt als bei bösartigen Effekten: bei nichtkanzerogenen Effekten geht es meist nicht darum, ob wenige oder viele Zielzellen betroffen sind – eine kleinflächige entzündliche oder nekrotische Veränderung würde ebenso als adverser Effekt gewertet wie eine großflächige. Anders bei krebserzeugender Wirkung: dort wurde zunächst vermutet, dass bei Kontakt mit vielen Zielzellen die Wahrscheinlichkeit steigt, dass in einzelnen dieser Zielzellen die tumorigene Wirkung eintritt. Die betroffene Anzahl von Zellen und der Epithelfläche spielen bei Krebs tendenziell eine größere Rolle als bei nichtbösartigen Effekten.

Es gibt keine offensichtlichen Gründe, warum bei lokalen nichtkanzerogenen Effekten im Atemtrakt gegenüber systemischen nichtkanzerogenen Effekten eine abweichende Gesetzmäßigkeit zu beachten wäre. Unter Berücksichtigung

- der jeweiligen Atemrate und des Atemminutenvolumens (entspricht Faktoren, die bei systemischen Effekten sich im Scaling widerspiegeln) und
- der physiologischen Unterschiede im Zugang zum relevanten Bereich des Respirationstrakts (entspricht als deponierte Fraktion dem Anteil, der bei systemischen Effekten mit der Resorption erfasst wird) und
- der Normalisierung auf ein geeignetes Gewebe- oder Organmaß (entspricht Faktoren, die bei systemischen Effekten der Normalisierung auf das Körpergewicht entsprechen und die ebenfalls in das Scaling eingehen)

wird bei gleicher äußerer Exposition die maßgebliche Dosis für den Speziesvergleich berechnet.

In einem früheren Projekt (Kalberlah et al., 1999) wurde bereits versucht, toxikologisch begründete Aussagen zur Interspeziesextrapolation bei lokal wirkenden Substanzen zu ermitteln. Bereits damals wurde vorgeschlagen, kinetischen Differenzen (von äußerer Exposition zur Exposition vor Ort) über dosimetrische Überlegungen Rechnung zu tragen. Empfindlichkeitsunterschiede wurden mangels geeigneter Daten nur für sehr wenige Substanzen vertieft analysiert. In der Regel konnte keine eindeutige Aussage getroffen werden, weil

- andere Regionen des Respirationstrakts bei den unterschiedlichen Spezies betroffen waren,
- verschiedene analytische Parameter die jeweilige lokale Toxizität charakterisierten, und
- sich die Studienqualität (Humanbeobachtungen vs. Beobachtung im Tierexperiment) erheblich unterschied.

Mit diesen Einschränkungen wurde für die acht ausgewerteten Substanzen im Mittel eine ähnliche oder gleiche Empfindlichkeit ermittelt. Die Studie betraf jedoch auch gasförmig vorliegende Substanzen und teilweise Endpunkte im oberen Respirationstrakt, so dass die Auswertungsbasis für Stäube und Aerosole, die im unteren Atemtrakt wirken (TB- und PU-Bereich) nicht hinreichend aussagekräftig ist. Andere empirische Analysen zu lokal wirkenden Stoffen sind uns nicht bekannt.

Wie bei systemischen (nichtkanzerogenen und kanzerogenen) Effekten ist also die Unsicherheit für die Annahme gleicher Empfindlichkeit bei so definierter gleicher Dosis hoch. Wir schlussfolgern jedoch, dass das Ausmaß der Unsicherheit im Vergleich zu kanzerogenen Wirkungen geringer ist, weil

- die statistische Basis für die Dosiswahl und angenommene gleiche Empfindlichkeit im Speziesvergleich (jedenfalls bei systemisch wirkenden nichtkanzerogenen Stoffen) besser ist, und
- das biologische Verständnis für diese Annahme besser ist (weniger Einfluss über Anzahl der betroffenen Zielzellen und in der Entwicklungsgeschichte begründete vergleichbare Mechanismen).

Damit lassen sich beim etwas weniger komplexen Geschehen der nichtkanzerogenen Wirkung auch Abweichungen vom Default im Speziesvergleich im Einzelfall besser rechtfertigen.

4.2 Vergleichbarkeit: Zielzellen und Mechanismus

4.2.1 Kanzerogene Substanzen

Bei der Frage, ob eine identische Dosis (auch quantitativ) zur identischen Wirkung führt, ist zu klären, ob der Mechanismus der Kanzerogenese beim Lungenkrebs sich zwischen Versuchstierspezies und dem Menschen gleicht und ob das gleiche Zielgewebe betroffen ist (vgl. auch Normalisierung, Abschnitt 4.3). Wären Mechanismus und Zielort verschieden, so würden sich zumindest gravierende Unsicherheiten im quantitativen Speziesvergleich ergeben.

Beim Menschen werden – je nach Quelle – in 75-85% der Fälle „non-small-cell lung cancer“ (NSCLC) Tumoren (nichtkleinzellige Bronchialkarzinome) beobachtet. Weiterhin werden „small-cell lung cancer“ (SCLC) Tumoren (kleinzellige Bronchialkarzinome) mit 15-25% im Menschen gefunden (Hoenerhoff et al., 2009; Malkinson, 1998; Wakamatsu et al., 2007). Tabelle 4-2 gibt eine differenzierte Übersicht zur Relevanz dieser Tumoren beim Menschen, wobei die Häufigkeit stark durch das Rauchen bestimmt ist (Devesa et al., 2005; Malkinson, 1998). Die Relevanz des Plattenepithelkarzinoms nimmt gegenüber dem Adenokarzinom ab, wobei die Daten widersprüchlich sind, ob heute mehr Adenokarzinome im Vergleich zu Plattenepithelkarzinomen beim Menschen vorliegen. Offensichtlich gibt es erhebliche regionale Unterschiede (Charloux et al., 1997; Devesa et al., 2005).

Tabelle 4-2: Häufigkeit des Auftretens verschiedener Lungenkrebsformen

Tumorklassifikation/ Typ	Häufigkeit
Nichtkleinzellige Bronchialkarzinome	75-85% (Hoenerhoff et al., 2009; Malkinson, 1998; Wakamatsu et al., 2007).
Plattenepithelkarzinom	25-40% (Husain and Kumar, 2005)
Adenokarzinom	25-40% (Husain and Kumar, 2005)
Azinäres Adenokarzinom	
Papilläres Adenokarzinom	
Bronchioalveoläres Adenokarzinom	
Großzellkarzinom	10-15% (Husain and Kumar, 2005)
Riesenzellkarzinom	
Klarzellkarzinom	
Kleinzellige Bronchialkarzinome	20-25% (Husain and Kumar, 2005)
Haferzell-Karzinom	
Intermediäres kleinzelliges Karzinom	
Kombiniertes Haferzell-Karzinom	

Die Lokalisation des Bronchialkarzinoms beim Menschen ist unterschiedlich. Plattenepithel- und SCLC-Karzinome sind eher zentral lokalisiert (Bronchus), während Adenokarzinome oft, jedoch nicht immer, sich im peripheren Bereich vorfinden, d.h. mit alveolären Veränderungen verbunden sind.

Bei der Maus liegt uns keine umfassende Statistik zu den jeweiligen Tumortypen vor. Spontan treten jedoch Plattenepithelkarzinome nicht auf. Eine kursorische Auswertung zu Tumorlokalisationen (Ratte, Maus) in NTP-Studien zeigte, dass die Bedeutung dieses Tumortyps auch nach Chemikalienexposition deutlich geringer ist als die von Adenokarzinomen. Hartwig (2011) gibt an, dass *„diese Tumorform bei Nagern – im Gegensatz zum Menschen – häufiger in der Lungenperipherie als in den zentralen Luftwegen gefunden [wird] und ... sich histologisch über Plattenepithelmetaplasien und Dysplasien entweder aus proliferierenden Basalzellen des respiratorischen Epithels oder aus proliferierenden Typ II Pneumozyten“* [entwickele]. Das kleinzellige Bronchialkarzinom tritt bei der Ratte nicht auf (Borm et al., 2004).

Bei der Maus sind die meisten beobachteten Tumoren der Lunge Adenokarzinome. Dabei sollte beachtet werden, dass der Begriff „bronchioalveolares“ Adenom oder Karzinom in der Maus missverständlich ist. Nach Nikitin et al. (2004) sollte diese Terminologie nicht mehr für die Maus verwendet werden, da diese Tumoren bei der Maus sich von dem Subtyp des bronchioalveolären Adenokarzinoms des Menschen (BAC) unterscheidet. Sofern bei der Maus eine Zuordnung zum anatomischen Platz begründet werden kann, sollte eine entsprechende Ergänzung vorgenommen werden, z.B. „Adenokarzinom, alveolar“.

Histopathologisch sind Adenokarzinome der Lunge in Maus und Mensch nicht unterscheidbar.

Genexpressionsanalysen und vergleichende mechanistische Betrachtungen auf Basis beobachteter Mutationen im Speziesvergleich zeigen, dass häufig ähnliche Vorgänge eine wichtige Rolle spielen (de Seranno and Meuwissen, 2010; Wakamatsu et al., 2007).

Zum Beispiel werden die für die Lungentumorigenese wichtigen K-RAS- Mutationen beim Menschen in 25-40% der Fälle bei atypischen adenomatösen Hyperplasien (mögliche präkanzeröse Veränderung von Adenokarzinomen) beobachtet. Diese Mutationen scheinen also eine relevante Bedeutung bei dieser Art von Lungenkrebs zu besitzen. Diese Mutationen treten in mehr als 80% der Lungentumoren von älteren unbehandelten A/J Mäusen und nahezu bei allen gegenüber Schadstoffen exponierten A/J Mäusen auf. Demgegenüber gibt es nur bei 20% der spontanen Lungentumoren bei B6C3F1-Mäusen K-RAS-Mutationen mit einer sehr unterschiedlichen Induzierbarkeit über lungenkanzerogene Fremdstoffe (20% bis nahe 100%). Auch wenn die beschriebene Mutation möglicherweise nur ein Schritt im Entwicklungsgeschehen zum Lungentumor darstellen, bestätigen die gleichartigen Mutationen die Ähnlichkeit in Schritten der Kanzerogenese im Speziesvergleich, die Stammesunterschiede zeigen aber die Unsicherheit in der quantitativen Ausgangsbasis (tumorigenes Risiko im Tierversuch) (Wakamatsu et al., 2007).

De Seranno und Meuwissen (2010) führen aus: „*While susceptibility and incidence of spontaneous lung tumours varies between well-established mouse-inbred strains, all their molecular pathologies share many similarities with human lung cancer.*“

Allerdings bestehen bei der Maus erhebliche stammspezifische Unterschiede. Das „Maus Tumormodell“, wie es zum Beispiel in der pharmakologischen Forschung eingesetzt wird, beinhaltet die Verwendung transgener Mäusestämme oder „knockout“-Mäusestämme, bei denen das Auftreten oder die Inhibition von Tumoren keine Aussagekraft für den quantitativen Speziesvergleich (Ableitung von Expositionrisikobeziehungen) besitzen. Aber auch üblicherweise in Tierexperimenten verwendete Stämme weisen erhebliche Variationen in der Sensitivität gegenüber Lungentumoren auf.

Zu den Unterschieden zwischen Maus und Mensch im Zusammenhang mit proliferativen Veränderungen in der Lunge kommentieren Nikitin et al. (2004):

- Hyperplasie ist bei der Maus eindeutiger als beim Menschen charakterisiert
- Im Gegensatz zum Menschen sind Hyperplasie und Adenome die hauptsächlichsten proliferativen Effekte in der Mauslunge
- Stromaeffekte (Fibrose, Entzündung) sind bei der Maus schwächer ausgeprägt
- Mäusetumoren metastasieren selten
- Bei Mäusen werden üblicherweise multiple Tumoren induziert
- Plattenzellkarzinome und neuroendokrine Karzinome (SCLC) entstehen bei der Maus nicht spontan
- Einige Lungentumortypen, die beim Menschen auftreten, sind in der Maus nicht beschrieben (z.B. Karzinome mit pleomorpher, sarkomatoider oder sarkomatösen Elementen und Karzinome der Speicheldrüse)
- Die Gegenwart von Kombinationen verschiedener Tumortypen (wie Adenokarzinome und Plattenzell- und neuroendokrine Tumoren) sind bei der Maus ungewöhnlich.

Phalen und Mendez (2009) weisen zudem darauf hin, dass der Nager im Unterschied zum Menschen keine respiratorischen Bronchiolen besitzt, welche als Lokalisation von z.B. Fibrosen (und Emphysemen) humanrelevant sind.

Green (2000) stellt die Unterschiedlichkeiten der Zelltypen für Lungentumoren im Speziesvergleich gegenüber (vgl. Tabelle 4-3).

Tabelle 4-3: Unterschiedlichkeiten der Zelltypen für Lungentumoren im Speziesvergleich nach Green (2000)

Tumortyp	Mensch	Ratte	Maus
Keratinisierende Zysten	Nein	Ja	Nein
Adenom	Selten	Ja	Ja
Adenokarzinom	Ja	Ja	Ja

Plattenepithelkarzinom	Ja	Ja	Ja
Kleinzell anaplastisch	Ja	Nein	Nein
Großzell anaplastisch	Ja	Nein	Nein

Die Ursprungszelltypen für Lungenkrebs – oder auch nur für Adenokarzinome als wichtigste Tumorart - sind weder bei Nagern noch beim Menschen völlig eindeutig identifiziert. Einige Autoren geben an, dass die Tumoren von Clarazellen ausgehen würden oder von Typ-II-Zellen des Alveolarepithels (Malkinson, 1992; Nikitin et al., 2004): *„Precise sequential studies of chemical carcinogenesis, together with ultrastructural and immunohistochemical studies, have demonstrated that most spontaneous, as well as chemically induced, pulmonary tumors originate from type II pneumocyte.“* (Nikitin et al., 2004)

Diese Interpretation ergibt jedenfalls einen Hinweis auf eine alveoläre Tumorlokalisation. Allerdings schränken die Autoren die Aussage auch ein, indem sie darauf hinweisen:

„The alternative possibilities of malignant transformation of Clara cells, or a precursor cell common for type II pneumocytes and Clara cells must also be considered.“ (Nikitin et al., 2004)

Letzterer Hinweis hat inzwischen an Gewicht gewonnen: Nach neuestem Wissensstand spricht viel dafür, dass sogenannte bronchioalveoläre Stammzellen (BASCs) der Ausgangspunkt für hier fraglichen Ursprungszellen für die Adenokarzinome der Lunge darstellen (Snyder et al., 2009; Sullivan et al., 2010). Diese Zellen sind nahe den bronchioalveolären Übergangsverzweigungen lokalisiert („bronchioalveolar duct junction“ (BADJ)) und könnten auch beim Menschen eine entsprechende Rolle spielen (de Seranno and Meuwissen, 2010). Die Autoren schreiben: *„The bronchial stem cell population could be an ideal candidate for lung cancer progenitor. As these lung stem cells are already endowed with the capacity for self-renewal, they are excellent candidates for the accumulation of deleterious mutations. In fact, accumulating evidence already exist for BASCs that this is the case.“*

Es ist besonders hervorzuheben, dass die meisten Partikel in der Lunge in dem Bereich deponiert werden, in dem die BASCs vorgefunden werden (Nikitin et al., 2004).

Nach Malkinson (1998) liegt die Ursprungszelle für Plattenepithelkarzinome und für SCLC in den zentralen großen Bronchi, während die meisten Adenokarzinome in den distalen Atemwegen oder in den Alveoli entstehen. Dabei differenziert der Autor nicht eindeutig nach Spezies. Diese Einordnung bestätigt sich auf Basis der berichteten neuen Erkenntnisse (Sullivan et al., 2010) (vgl. Abbildung 4-1).

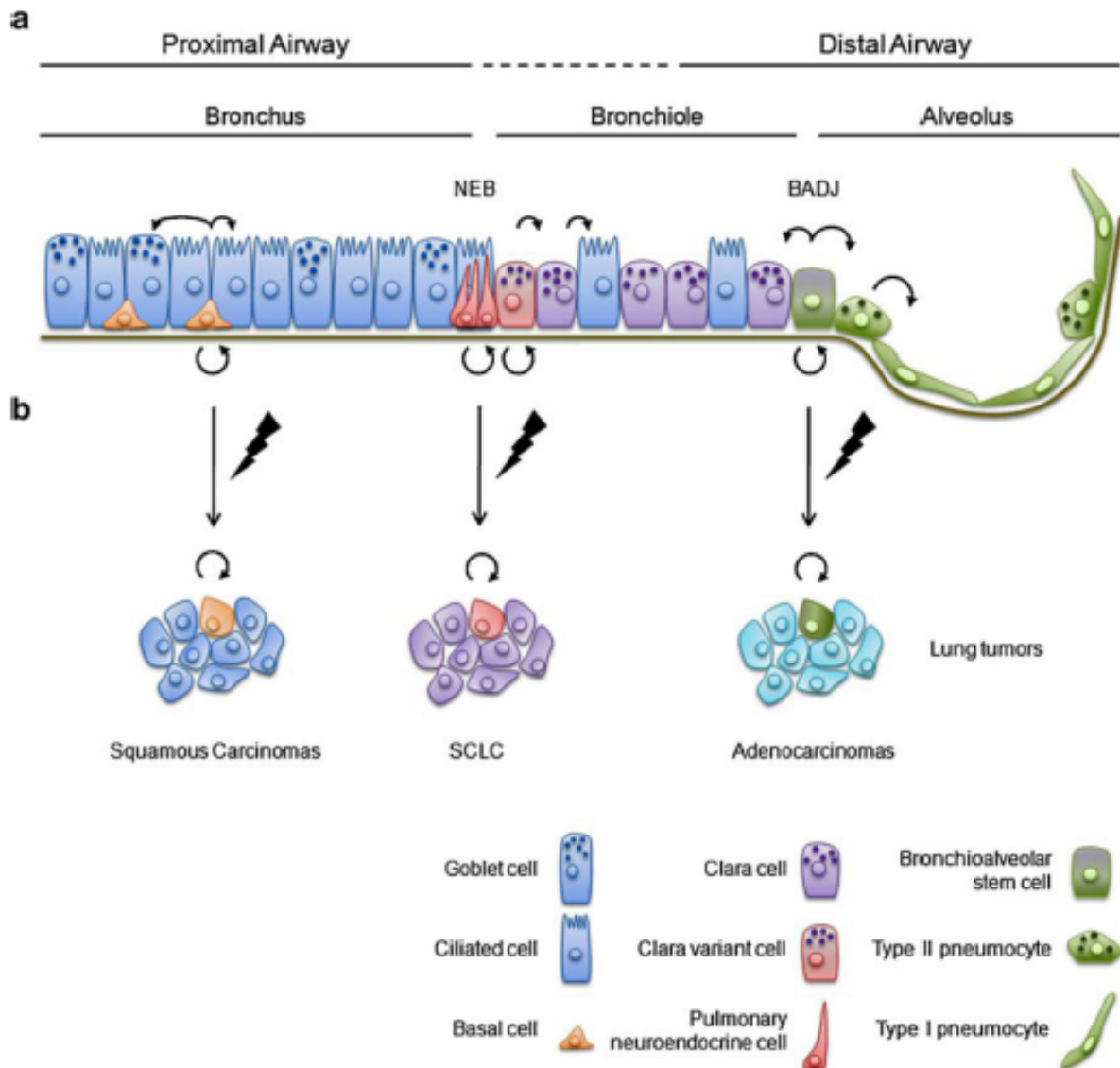


Abbildung 4-1: Vermutete Ursprungszellen für verschiedene Tumortypen (Lungentumoren), Quelle:(Sullivan et al., 2010)

Legende: NEB (Neuroendocrine Bodies), BADJ (Bronchiolalveolar duct junction), SCLC (small cell lung carcinoma); (a) die Akkumulation von onkogenen Mutationen (zackige Pfeile) in verschiedenen Stammzellkompartimenten der Lunge werden mit histologisch unterschiedlichen Tumortypen in der Lunge in Verbindung gebracht. Mit jeder dieser unterschiedlichen Lungentumortypen sind verschiedene Subpopulationen sich selbst erneuernder Tumorzellen verknüpft (schattierte Tumorzellen mit kreisförmigen Pfeilen), bei denen vermutet wird, dass sie die Erkrankung befördern.

Möglicherweise kommt es für eine Betrachtung der kritischen Dosis im Interspeziesvergleich aber nicht nur darauf an, die Zielzelle, in der der Tumor initiiert wird, zu identifizieren. Von besonderem Interesse könnte sein, auf welche Weise die Zielzelle initiiert oder transformiert wird. Hier scheinen bei Partikeln im bronchioalveolären Raum die Makrophagen zumindest bei einer Vielzahl von tumorigenen Prozessen eine dominierende Rolle zu spielen.

Es wird angenommen, dass über die Phagozytose von Partikeln Entzündungen induziert werden, die dann in Zielzellen (z.B. BASCs oder möglicherweise auch Typ II Zellen) zu reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) und reaktiven Stickstoffspezies (RNS) führen, was wiederum einen sehr bedeutender (Teil-)mechanismus für kanzerogene Effekte nach Partikelexposition darstellt: „*The most significant and important cellular ROS/RNS generating system in the lung is constituted by the pool of inflammatory phagocytes.*“ (Knaapen et al., 2004). Die Autoren nennen Quarz, schmermetallhaltigen Staub, Feinstaub, Kohlenstaub und „oil fly ash“ als Beispiele, bei denen dieser Mechanismus in Verbindung mit kanzerogenen Effekten Bedeutung habe. Auch Pauluhn (2011) ordnet diesem Mechanismus die zentrale Rolle bei der Kanzerogenese in der Lunge zu, zumindest bei granulären biobeständigen Stäuben (GBS), aber darüber hinaus als Teilmechanismus auch bei anderen schwer löslichen Partikeln. Dieses Wirkprinzip wird sowohl beim Versuchstier wie beim Menschen als relevant angesehen. Allerdings gibt Hartwig (2011) für GBS-Partikel an: „*Bei der Ratte treten GBS-induzierte Tumoren im peripheren Lungenbereich auf; beim Menschen sind GBS-induzierte Tumoren zwar nicht bekannt, allgemein entstehen jedoch Lungentumoren, in der Regel Bronchialkarzinome, in mehr zentral gelegenen Bezirken.*“

Unsere Schlussfolgerung lautet, dass bei Lungenkrebs Wirkmechanismus und Wirkort hinreichend zwischen Nagern und dem Menschen übereinstimmen, um in der Regel die qualitative Übertragbarkeit der Befunde annehmen zu können. Dies trifft für Adenokarzinome im Tierversuch zu, ist jedoch bei Plattenzellkarzinomen stärker in Frage zu stellen. Wegen der größeren Heterogenität und Multiplizität der Tumore beim Menschen enthält eine quantitative Übertragung relevante Unsicherheiten. Wie im Abschnitt 4.3.1 zu diskutieren sein wird, ergeben sich aus diesen mechanistischen Erkenntnissen Auswirkungen für die jeweils geeignete Normalisierung (Bezug zur Gewebedosis): die Lokalisation der tumorrelevanten Zellen und die Unterschiede in der regionalen Deposition führen dazu, dass sich aus der mechanistischen Übertragbarkeit nicht automatisch ableitet, dass die gleiche Dosis mit gleicher Empfindlichkeit verknüpft ist.

4.2.2 Nichtkanzerogene Substanzen

In der Regel ist für nichtkanzerogene lokale Effekte von Partikeln und Aerosolen von einer Übertragbarkeit der im Tierexperiment beobachteten Effekte auf den Menschen auszugehen. Schwerlösliche Partikel werden – wie im Zusammenhang mit krebserzeugender Wirkung geschildert – über Makrophagen aufgenommen und können dort ggf. Entzündungen auslösen, wobei bei höherer Belastung (insbesondere bezogen auf Makrophagenvolumenauslastung) Speziesdifferenzen bestehen (vgl. Abschnitt 4.8). Gut lösliche Partikel kommen mit dem Surfactant in der Lunge in Kontakt, wer-

den unmittelbar in eine wässrige Hypophase überführt, wo Interaktionen mit Typ I-Zellen stattfinden können oder Interaktionen mit hydrophilen Proteinen (Wolff, 1996).

Green (2000) dokumentiert in einer Übersicht einige Speziesdifferenzen in der Reaktion gegenüber schwer löslichen Stäuben (vgl. Tabelle 4-4).

Effekt	Häufigkeit beim Menschen	Exposition	Vergleichbarkeit mit Effekten im Nager
Staubakkumulation ohne Fibrose	üblich	Umweltstäube, lästige und schwach fibrogene Stäube bei niedriger Partikelbelastung	Ja, aber Speziesdifferenzen in der Verteilung der Stäube im Lungengewebe beobachtet
Fokale Anhäufungen von staubbeladenen Makrophagen (Macule)	Sehr häufig	Zigarettenrauch, Kohlen-, Kohlestäube, und schwach fibrogene Stäube bei niedriger Partikelbelastung	Im Nager oft zentriazinäre Staubakkumulation; Allerdings sind Typ II-Zellproliferation, alveoläre Bronchienbildung, akute Entzündung, und alveoläre Lipoproteinose häufiger. Zentriacinäre (fokale) Emphyseme beim Menschen häufiger
Small airway disease	Sehr häufig	Zigarettenrauch, faserförmige und nichtfaserförmige Mineralstäube	Nicht gut für den Nager charakterisiert. Vergleiche sind wegen der Speziesdifferenzen schwierig.
Nodulen (a) Fremdköpertyp (b) Mischstaubtyp (c) Silikotisch	Häufig Sehr häufig Häufig	Silikate (z.B. Talk) Silikate oder Staubgemische mit weniger als 20% Quarz Stäube mit > 20% Quarz	Ja Ja, jedoch beim Nager mehr zelluläre und weniger fibrotische Veränderungen als beim Menschen Ja, jedoch Differenzierungen (siehe Green, 2000)
Massive Fibrose (PMF)	Häufig bei hoher Exposition	Kohle, Quarz, Silikate, Carbon Black	Nein, es gibt keine Hinweise auf diese oder ähnliche Effekte beim Nager
Diffuse interstitielle Fibrose	Häufig	Asbest, nicht faserförmige Silikate	Ja, Quarz und Kohlenminenstaub
Lipoproteinose	Selten, Substanzspezifisch	Amphiphilische Stoffe, Quarz	Ja, sehr häufige Läsion in Ratten bei Stäuben und Rauchen
Aleolar/bronchiolare Hyperplasie	Sehr häufig nach Lungenschädigung, aber kein Partikeleffekt	Oxidative und reizende Gase, Rauche, Quarz und Asbest	Häufige Reaktion gegenüber vielen Agenzien inkl. nichtfaserförmige Partikel
Emphyseme	Häufig	Zigarettenrauch, Kohle, Quarz	Tritt auf, aber nicht häufig und schwach ausgeprägt
Cholesteringranulome	Selten	Aspiration	Häufig in Ratten nach vielen Expositionsbedingungen

Tabelle 4-4: Unterschiedliche Gewebereaktionen bei Nager und Mensch bei Exposition gegenüber schwerlöslichen Partikeln (Green, 2000)

Im vorliegenden Rahmen wurde nicht geprüft, ob sich für spezielle Effekte im unteren Atemtrakt (wie COPD, Asthma) systematische Speziesunterschiede ergeben, die bei der Extrapolation regelmäßig zu berücksichtigen wären. Diese Fälle wären ggfls. als Abweichungen vom Standardfall zu handhaben.

4.3 Normalisierungsmethoden

Das MPPD-Modell berechnet die deponierte Fraktion von Partikeln im Alveolar- und/oder Tracheobronchiolarbereich für Ratte und Mensch. Es gibt keinen Hinweis darauf, die Qualität dieser Abschätzungen in Frage zu stellen. Eine Veränderung gegenüber den Defaultwerten kann jedoch zu nichtplausiblen Ergebnissen führen, so dass in diesem Fall eine spezifische Begründung erforderlich ist. Für Details wird auf Abschnitt 5.3.3 verwiesen. Für die Maus wurde zwar mit dem ehemaligen RDDR-Modell der EPA (1994) ebenfalls eine Depositionsrate kalkuliert, die Datenlage scheint jedoch derzeit unzureichend, um die Anwendung entsprechender Modelle als hinreichend abgesichert zu bewerten. Mendez et al. (2010) führen zu der Thematik aus: *„Although much is known about the variations in respiratory tract anatomy and physiology among mouse strains and varieties, the data are only beginning to elucidate the differences in inhaled particle doses. Additional morphometric information on all of the regions of the respiratory tract is needed before doses in inhalation studies can be predicted.“*

Deponierte oder retinierte Partikel- und Aerosolfraktionen bei Ratte und Mensch werden für Dosisangaben mit einem speziespezifischen Maß für die Gewebebelastung ins Verhältnis gesetzt (vgl. Abschnitt 3; Formel mit Hinweis auf „Normalisierung“: NF_H bzw. NF_T).

Bekannt ist die Normalisierung auf das Körpergewicht oder Organgewicht. Es sollte jedoch angestrebt werden, ein biologisch plausibles Maß zu finden, so dass nach der Berücksichtigung der Normalisierung tatsächlich eine zwischen Tier und Mensch vergleichbare Dosisangabe resultiert.

Im Rahmen der Berechnung einer HEC wird üblicherweise die Oberfläche des Gewebes (oft: Alveolaroberfläche) als Normalisierungsmaß herangezogen. Statt des Bezugs auf Oberflächen sind auch Bezüge zur Anzahl der ventilatorischen Einheiten, der Alveolen oder der Alveolarmakrophagen denkbar (Jarabek et al., 2005). Pauluhn (2011) schlägt (für Nanopartikel und GBS) eine Bezugsgröße Partikelvolumen pro Volumen Lunge vor.

Folgende Fragen sind zu beantworten:

- Welche Normalisierungsmethode ist im Standardfall anzuwenden?
- Sind bei der Normalisierung kanzerogene und nicht kanzerogene Noxen zu unterscheiden (siehe auch Roller et al. (2006)?)
- Welche Parameter sind ggf. zu betrachten, um im Einzelfall andere Normalisierungsverfahren zu wählen?

4.3.1 Krebserzeugende Wirkung

Das geeignetste Maß für die Normalisierung der deponierten und retinierten Dosis ist mechanismus-abhängig: je nach Krebsmechanismus muss angenommen werden, dass unterschiedliche Zellen und die dort induzierten Reaktionen – vielleicht unterschiedliche Zielzellen, die extrazelluläre Oberfläche oder das Interstitium – die ent-

scheidende Bedeutung bei der Kanzerogenese spielen. Wenn sich allgemein Epithelzellen sich als mögliche Zielzellen erweisen würden, bei denen die kreberzeugende Veränderung beginnen kann, dann wäre die tracheobronchiale und/oder alveoläre Oberfläche möglicherweise das richtige Normalisierungsmaß. Wenn das Interstitium das Ziel wäre, dann würde das Lungengewicht evtl. die richtige Größe darstellen und wenn die Makrophagenaktivierung im Vordergrund steht, wäre evtl. die Anzahl der Makrophagen das richtige Maß (Brown et al., 2005). Eine für jeden Lungenkrebs einheitliche Aussage ist nicht möglich. Brown et al. (2005) führen aus: „*the parameters chosen can drastically affect the rat exposure concentration required to provide a normalized dose equivalent to that occurring in a human.*“

Vor dem Hintergrund der Erkenntnisse zu GBS-Partikeln und auch anderer Daten zu Stäuben kann unterstellt werden, dass die Makrophagenaktivität in jedem Fall eine sehr wichtige Einflussgröße bei lokalen Wirkungen in der Lunge haben wird. Es liegt daher nahe, als Normalisierungsmaß die Anzahl der Makrophagen heranzuziehen. Allerdings handelt es sich dabei um kein sehr konservatives Maß (siehe Beispielsrechnungen unten), insbesondere dann, wenn – wie Pauluhn (2011) vorschlägt – das größere Volumen bei den Humanmakrophagen berücksichtigt wird und statt dem Verhältnis zwischen (z.B.) Masse und Makrophagenanzahl das Verhältnis Partikelvolumen zu Makrophagenvolumen als Maßstab gewählt würde. Da es sich hier um einen wenig konservativen Maßstab handelt, müssten wir uns über die dominierende oder alleinige Relevanz der makrophageninduzierten Effekte sicher sein, um diese Normierung generell vorzuschlagen. Es ist jedoch plausibel, dass die Makrophagenaktivität gegenüber anderen möglichen Mechanismen bei toxisch wirkenden Partikeln (im Vergleich zu GBS) an Bedeutung verliert. Aus diesem Grunde muss bei einer Standardvorgehensweise erwogen werden, ein anderes, etwas konservativeres Normalisierungsmaß zu wählen, von dem nur bei sehr gutem mechanistischem Verständnis abgewichen werden kann.

Ein wichtiges Problem liegt darin, dass die Mechanismen durch den aus dem Tierversuch benannten Tumortyp nicht immer eindeutig erkennbar sind und einer Lokalisierung zugeordnet werden können. Eine Auswertung einer Vielzahl von NTP-Berichten zeigte, dass nur in sehr seltenen Fällen die genaue Lokalisation – insbesondere bei beobachteten Plattenepithelkarzinomen – zugeordnet wurde und dass – gerade beim Menschen – mit gemischten Tumortypen zu rechnen ist.

4.3.1.1 Regional unterschiedliche Deposition

In der einfachsten Variante berechnet das MPPD-Modell für eine gegebene Partikelexposition (einatembarer Staub) *eine* fraktionäre Deposition im Alveolarbereich, im tracheobronchialen Bereich oder kombiniert für beide Bereiche. Darüber hinausgehende Differenzierungen sind technisch möglich, jedoch aufwändig und in der Interpretation schwierig:

Es ist belegt, dass schwer lösliche Partikel nicht gleichmäßig im Thoraxbereich deponiert werden. Es ist plausibel, dass die „hot spots“ mit höherer Beladung eine zentrale Bedeutung bei der Auslösung von Krebs (und anderen gesundheitlichen Effekten) haben im Vergleich zu großen Teilen der Lungenoberfläche, die weit weniger beladen sind. Phalen et al. (2010) führen hierzu aus: „*The intensities of hot spots,*

which are described as enhancement factors (EF), are usually quantified as the ratio of particle deposition at a hot spot (per unit tracheobronchial surface area) to the average deposition on surrounding surfaces.“Die Autoren berichten von EF, die den Wert 1200 erreichen können!

Donaldson et al. (2008) schlagen vor, keine Normalisierung auf die gesamte Alveolaroberfläche vorzunehmen, sondern hierfür die proximale alveolare Region (PAR) heranzuziehen. Hierbei wird eine Epithelfläche angesprochen, die etwa den oben genannten „hot spots“ entspricht, bei denen höhere Deposition, Oberflächenbelastung und längere Retention zu erwarten sind. Für die Ratte wird angegeben, dass die terminale bronchiale Oberfläche plus PAR etwa bei 300 cm² liege. Leider gibt es weder für die „hot spots“ noch für die ähnlich definierten PAR quantitative Speziesvergleiche, so dass unklar ist, wie sich die Wahl eines solchen Normalisierungsmaßes auf den Interspeziesvergleich auswirken würde. Es wäre sehr wichtig, diese Kenngröße zu ermitteln. Vermutlich wäre der entsprechende Bereich dieser „hot spots“ oder PAR auch derjenige, in dem die nach neuestem Kenntnisstand relevanten Ursprungszellen für Lungenkrebs (BACSS) sich befinden (vgl. Abschnitt 4.2.1). Brody und Roe berichten für Ratte und Maus von gravierenden Akkumulationen von Fasern und Partikeln an den Alveolargangbifurkationen (Brody and Roe, 1983). Es ist derzeit nicht mit hinreichender Sicherheit auszumachen, welche Bedeutung eine Normalisierung auf „PAR“ oder „hot spots“ für den Interspeziesvergleich hätte. Zunächst kann nur ausgesagt werden, dass diese Bezugsgröße vermutlich aus biologisch/mechanistischen Gründen für die Analyse des tierexperimentellen Befundes richtiger wäre.

Außer dieser lokal sehr unterschiedlichen Deposition und den damit verbundenen Unsicherheiten für eine korrekte Normalisierung im Interspeziesvergleich bestehen in der großräumigeren regionalen Deposition wesentliche Inhomogenitäten:

Wie bereits von Lippmann und Schlesinger (1984) gezeigt wurde, ergeben sich beim Menschen zwischen den einzelnen Lungenbronchi gravierende Unterschiede in der Deposition von schwer löslichen Partikeln. Folgende Prozentsätze werden für ein definiertes experimentelles Szenario berichtet:

- Oberer rechter Lungenbronchus (je nach Partikelgröße) 40-60% Deposition¹
- Rechter mittlerer Lungenbronchus (je nach Partikelgröße) 5-8% Deposition
- Rechter unterer Lungenbronchus (je nach Partikelgröße) 10-18% Deposition
- Linker oberer Lungenbronchus (je nach Partikelgröße) 15-20% Deposition
- Rechter unterer Lungenbronchus (je nach Partikelgröße) 8-15% Deposition.

Diese Unterschiede in der regionalen Depositionsrate werden in der aktuellen Literatur größenordnungsmäßig durchgängig bestätigt (Green, 2000; Schmidt and Hölzel, 2001). Tatsächlich korrelieren auch die beobachteten Lungenkrebshäufigkeiten gut mit diesen unterschiedlichen Depositionen. Die Autoren geben an,

- für Tumoren im oberen rechten Lungenbronchus: 35%
- Rechter mittlerer Lungenbronchus: 8%

¹ Werte in Quelle graphisch dargestellt ohne genaue Angabe (hier: Ablesegenauigkeit, ebenso für verknüpfte Angaben zur Krebshäufigkeit)

- Rechter unterer Lungenbronchus: 18%
- Linker oberer Lungenbronchus: 25%
- Rechter unterer Lungenbronchus: 12%,

wobei bei groberen Partikeln die Korrelation besser ist als bei feinen (Green, 2000; Lippmann and Schlesinger, 1984).

Subramaniam et al. (2003) weisen darauf hin, dass die von dieser Arbeitsgruppe gefundenen Depositionen in den unteren Lungenlappen schlechter zum Tumorgeschehen passen als die Depositionen in den Bronchi nach Lippman und Schlesinger(1984): *„there are large differences between the deposition profiles in the upper, lower and middle lobes. These differences are striking when one examines deposition in each generation of the airways across the five lobes. Our result showing greater in the lower lobes is in agreement with the experimental in vivo work And with the calculations of Yeh and Schum (1980) and Gerrity et al. (1981). However, various clinical observations show a preponderance of lung carcinoma in the upper lobes...“*. Die Gruppe um Subramaniam war bei der Entwicklung des MPPD-Modells beteiligt.

Es ist offensichtlich, dass eine Normalisierung mit Bezug der gesamten deponierten Fraktion zum gesamten tracheobronchialen und pulmonären Bereich zu einer Mittelung führt, die aus mehreren Gründen problematisch ist:

- sie wäre nur bei linearer Dosiswirkungsbeziehung gerechtfertigt (die verhältnismäßig große Oberfläche des rechten mittleren Lappens kann z.B. sonst zu einem „Verdünnungseffekt“ führen und ggfls. vorliegende Sättigungsphänomene im rechten oberen Bronchus werden nicht erfasst),
- sie würde nur dann unwesentlich sein, wenn die Depositionsmuster im Tier analog verlaufen würden, was nicht der Fall ist (sonst kommt es zu Verschiebungen in der Vergleichsdosis; vgl. auch optische Darstellung in Abbildung 5-7 und Abbildung 5-8),
- durch die unklare Abgrenzung zwischen tracheobronchialem Anteil und aleolärem Anteil innerhalb der einzelnen Lungenlappen ist der Bezug auf übliche Normalisierungsmaße besonders schwierig herzustellen. Wird zum Beispiel die Gesamtoberfläche (TB- plus PU-Oberfläche) für die Normierung herangezogen, dann fällt die TB-Fläche wegen der großen Oberflächenunterschiede nicht ins Gewicht, kann aber für Tumoren im TB-Bereich für sich genommen eine entscheidende Bedeutung haben. Dieses Problem dürfte insbesondere dann gravierend werden, wenn gemischte Tumoren (periphere und zentrale Adenokarzinome und Plattenepithelkarzinome) beim Menschen auftreten können.

Durch den anderen Aufbau der Lunge bei Nagern ist dort die Verteilung in den einzelnen Regionen der Lunge gleichmäßiger und tendenziell sind mehr periphere Bereich der Lunge betroffen als beim Menschen, so dass die beim Mensch zu erwartende Inhomogenität im Tier nicht darstellbar ist.

Grundsätzlich kann man mit dem MPPD-Modell regionale Differenzen in der Deposition abbilden (vgl. Abschnitt 5.2.2; Abbildung 5-7 und Abbildung 5-8). Es ist jedoch ungelöst, welches regionale Depositionskompartiment beim Tier mit welchem Depo-

sitionskompartiment im Menschen in Beziehung zu setzen wäre. Außerdem muss wieder entschieden werden, ob nur die Deposition im Alveolarbereich nur auf den Alveolarbereich normalisiert wird oder ob die Deposition im Bronchialast einbezogen wird. Die Konsequenzen und Schwierigkeiten bei diesem Schritt in der Speziesextrapolation sind offensichtlich.

Beim Menschen finden sich ca. 50% der Lungentumoren im Zentralbereich der Lunge, also im Wesentlichen in den zuführenden Atemwegen (Schmidt and Hölzel, 2001). Beelke (2007) berichtet aus einer Untersuchung zu ca. 5000 Lungenkrebsfällen, dass ca. 11% der Tumoren im Hauptbronchus gefunden wurden (vgl. Tabelle 4-5). In jeder der Lungentumorbefunde nach Ziffer C34.1-C34.9 können sowohl alveolare wie auch Tumoren in den Bronchien enthalten sein. Es bestätigt sich demnach die bereits oben erwähnte Schwierigkeit der Zuordnung bei der Normalisierung.

Tabelle 4-5: Tumorlokalisation in der Lunge beim Menschen nach „International Classification of Diseases for Oncology, 2nd revision, ohne Krebserkrankungen, die nur aufgrund des Todesscheins diagnostiziert wurde, Quelle: (Beelte, 2007)

Lokalisation	Häufigkeit
C33.9 Trachea	18 (0,3%)
C34.0 Hauptbronchus	580 (11,2%)
C34.1 Lungenoberlappen	2711 (52,3%)
C34.2 Lungenmittellappen	281 (5,4%)
C34.8 Mehrere Teile	245 (4,7%)
C34.9 ohne nähere Angabe	1353 (26,1%)
GESAMT	5188 (100%)

4.3.1.2 Normalisierung ohne Berücksichtigung regionaler Differenzierungen

Im Folgenden vernachlässigen wir diese Schwierigkeiten durch regional unterschiedliche Deposition und vergleichen eine definierte Gesamtfraktion von Partikeln mit den jeweilig möglichen Normalisierungsmaßen. Für einige liegen Daten vor, die uns einen Eindruck davon geben, welche Bedeutung die jeweiligen Dosisdefinitionsunterschiede besitzen können.

Oberdörster (1989) berichten für eine Nickelverbindung unterschiedliche HEC/C-Verhältnisse je nach gewählter Normalisierung. Klammert man dabei jene Werte aus, die eine angemessene Bewertung der Clearance beinhalten müssen (akkumulierte Dosisbetrachtung problematisch) und ordnet dem sehr groben Maß: Inhaliertere Dosis/Körperoberfläche eine geringere Bedeutung zu, so bewegen sich die HEC/C-Unterschiede in einem Bereich zwischen ca. 1 und 4 (vgl. Tabelle 4-6: Auswirkungen unterschiedlicher Normalisierungen auf angenommene Speziesdifferenzen (HEC/C); Quelle: (Oberdörster, 1989).

Tabelle 4-6: Auswirkungen unterschiedlicher Normalisierungen auf angenommene Speziesdifferenzen (HEC/C); Quelle: (Oberdörster, 1989)

Basis	HEC/C
Inhalierte Dosis/ kg Körpergewicht	4,5
Inhalierte Dosis/ Körperoberfläche	0,7
Deponierte Dosis/ cm ² Tracheobronchialoberfläche	1,85
Deponierte Dosis/ cm ² pulmonäre Oberfläche	1,15
Deponierte Dosis/ g Lungengewicht	4,86
Akkumulierte Dosis/ g Lungengewicht	1,78
Akkumulierte Dosis/ cm ² pulmonäre Oberfläche	0,4
Akkumulierte Dosis/ cm ² pulmonäre Oberfläche (leichte Aktivität)	0,08

Oberdörster (1989) diskutiert auch die Frage einer noch spezifischeren Zuordnung:“
...rather than considering the tracheobronchial region or the pulmonary region as a whole...one could go a step further and select more distinct local regions or even certain cells only of the respiratory tract. Thus, in generations 3 to 6 of the conducting airways, the deposited surface area dose... is predicted.”

Eine überschlägige Einordnung dieser speziellen Normalisierung führte jedoch zu einem HEC/C-Faktor im Rahmen der oben gezeigten Spanne.

Brown et al. (2005) berichten Vergleichszahlen, von denen eine Auswahl in der folgenden Tabelle 4-7 gezeigt wird. Die Berechnungen erfolgten dabei mit dem MPPD-Modell in der Fassung von 2005:

Tabelle 4-7: Auswirkungen verschiedener Normalisierungsmaße auf den Faktor HEC/C auf Basis einer Literaturlauswertung von mit MPPD berechneten Depositionsdaten (Quelle: Brown et al.(2005))

Szenario I:	Speziesvergleich (Mensch/ Ratte) bei gleicher äußerer Partikel Exposition über 6 Stunden, leichte Aktivität beim Menschen, Partikeldurchmesser Ac („accumulation mode“, i.e. 0,1-1 µm Durchmesser; oder C („coarse“, i.e., > 1 µm Durchmesser) bei Tier wie Mensch, betrachtet hier nur Alveolarbereich (nicht tracheobronchial); wegen Kurzzeitexposition kein relevanter Clearanceeinfluss; Ergebnis als Faktor (HEC/C)		
	Normalisierungsmaß	Ac	C
Partikelmasse	/Lungengewicht	5,88	3,23
	/Körpergewicht	2,13	1,39
	/Alveolarfläche	1,85	1,20
	/Makrophage*	2,17	1,23

Szenario II:	Speziesvergleich (Mensch/ Ratte) bei gleicher äußerer Partikel Exposition über 6 Stunden, leichte Aktivität beim Menschen (light), oder mittlere Aktivität bei normaler Mund- und Nasenatmung (moderate), Tier Ruheaktivität; Partikelgemisch beim Menschen (breite Partikeldurchmesserverteilung; „resuspended“ bei Ratte, ebenfalls mit breiter, jedoch nicht identischer, Partikeldurchmesserverteilung); betrachtet hier nur Alveolarbereich (nicht tracheobronchial); wegen Kurzzeiteexposition kein relevanter Clearanceeinfluss; Ergebnis als Faktor (HEC/C)		
	Normalisierungsmaß	light	moderate
Partikelmasse	/Lungengewicht	3,7	1,59
	/Körpergewicht	1,61	0,67
	/Alveolarfläche	1,39	0,59
	/Makrophage*	1,43	0,59
*) bei Makrophagen: nur Deposition, ohne Berücksichtigung von Clearance aus Integration über 6 Stunden			

Bei Zahlenwerten für HEC/C > 1 ist das Versuchstier empfindlicher, bei Zahlen unter 1 der Mensch. Der Fokus in der Tabelle liegt jedoch nicht auf dem Wert HEC/C, sondern auf den Unterschieden dieser Werte je nach Normalisierungsmaß. Auf Basis der in Brown et al. (2005) dokumentierten Daten und der hier berichteten Auswahl zeigt sich, dass sich beim Speziesvergleich aus der gewählten Normalisierung ein Unterschied um den Faktor von 2 bis 3 ergeben kann. Diese Unterschiede würden sich bei Berücksichtigung der Clearance (nach der Berechnungsweise des MPPD-Modells) über längere Zeitdauer verstärken. Bei anderen Normalisierungsmaßen könnten die Unterschiede möglicherweise weit gravierender sein.

Um dies zu testen, haben wir diese Überlegung mit weiteren Normalisierungsmaßen erweitert. Dabei wurden als Beispiel Basiswerte zu einer Studie zu Tonerstaub herangezogen, die auch bei der MAK-Kommission bei der Ableitung des GBS-Grenzwerts gewählt wurden (Hartwig, 2011). Dafür musste die Ableitung des Dosismetrieanpassungsfaktors (DAF) gegenüber der Darstellung in Abschnitt 3 verändert werden, wie in Tabelle 4-8 dargestellt. Die Deposition wurde mit Hilfe des MPPD-Modells berechnet (Werte aus Hartwig (2011)).

Tabelle 4-8 beinhaltet die Berechnung der Lungenbelastung nach chronischer Exposition und Tabelle 4-9 eine Normalisierung dieses Werts über verschiedene Normalisierungsmaße, wie sie in der Literatur vorgefunden wurden:

Tabelle 4-8: Gleichgewichtsbeladung der Lunge bei Mensch und Ratte bei Anwendung der in Hartwig (2011) berichteten Parameter

		Ratte	Mensch
	Expositionsdauer/d	6h	8h
(1)	Atemvolumen (AV) /d	0,077 m ³	10 m ³
(2)	Mittelung (chronisch)	5/7 d/Woche	240/365 d/Jahr
(3)	(1) x (2), gewichtet, (AgV)	0,055 m ³ /d	6,57 m ³ /d
(4)	Depositionsfaktor (aus MPPD für Tonerstaub) DF	0,0404	0,073
(5)	(3) x (4), Lungenbelastung	0,00223 m ³ /d	0,48 m ³ /d

(6)	Eliminationshalbwertszeit (aus Literaturdaten)	60 d	400 d
(7)	Eliminationsrate ELR (konstante) = ln 2 / Eliminationshalbwertszeit (6)	0,0116/d	0,00173/d
(8)	(5)/(7) Gleichgewichtslungenbeladung	0,192m ³	277,5m ³
(9)	Faktor Mensch/ Ratte (aus 8)	0,00069	

Zum Vergleich zu der in Abschnitt 3 angegebenen Formel können wir diese Rechnung im Folgenden in angepasster Form darstellen. Für die Erfassung der retinierten Dosis wurde eine Erweiterung um dem Term der Eliminationsrate (ELR) vorgenommen (entfällt bei der deponierten Dosis) und statt des Atemminutenvolumens wurde das mit der körperlichen Aktivität gewichtete Atemvolumen/ Tag (AgV) berücksichtigt:

$$DAF = \frac{AgV_T}{AgV_H} \times \frac{DA_T}{DA_H} \times \frac{ELR_H}{ELR_T} \times \frac{NF_H}{NF_T}$$

Mit den eingesetzten Quantifizierungen aus Tabelle 4-8 für alle Faktoren außer dem Normalisierungsmaß ergab sich:

$$DAF = \frac{0,055}{6,57} \times \frac{0,0404}{0,073} \times \frac{0,00173}{0,0116} \times \frac{NF_H}{NF_T}$$

oder:

$$DAF = 0,00837 \times 0,553 \times 0,149 \times \frac{NF_H}{NF_T}$$

oder:

$$DAF = 0,00069 \times \frac{NF_H}{NF_T}$$

Auf dieser Basis kann nun die Auswirkung unterschiedlicher Normalisierungsmaße abgebildet werden:

Tabelle 4-9: Auswirkungen unterschiedlicher Normalisierungen auf das Verhältnis HEC/C auf Basis einer retinierten oder deponierten Dosis

Normalisierungsmaß	Ratte	Mensch	Verhältnis Mensch/Ratte	HEC/C =DAF retiniert	HEC/C =DAF depo- niert
Lungenoberfläche (Hartwig, 2011)[m ² /Lunge] (SD-Ratte)	0,295	56,778	192,5	0,133	0,89
Fläche der Atemwege (conducting airways, bronchi, bronchioli) (Mercer et al., 1994)[total, cm ²] (SD-Ratte)	27,2	2471	90,8		
Oberfläche Respirationstrakt (TB+AV) [cm ²], (Ratte, ohne Stammangabe) (Oberdörster, 2010)	4125	630200	152,8	0,101	0,67
Typ I Epithel (Newton, 2002), [m ² / beide Lungen] (SD-Ratte)	0,387	89	230	0,159	1,07
Typ II Epithel (Newton, 2002), [m ² / beide Lungen] (SD-Ratte)	0,015	7	466,67	0,322	2,16
Gesamtzellenzahl/Lunge (Newton, 2002), x 10 ⁹ (SD-Ratte)	0,89	230	258	0,178	1,19
Anzahl Alveoli (Geiser, 2010), x 10 ⁶ (SD-Ratte)	19,7	480	24,36	0,017	0,11
Anzahl Alveoli, (Jarabek et al., 2005)x 10 ⁶ (Ratte, ohne Stammangabe)	30	300	10	0,007	0,05
Anzahl ventilatorische Einheiten, (Jarabek et al., 2005) (Ratte, ohne Stammangabe)	2404	65536	27,26	0,019	0,13
Anzahl Makrophagen (Geiser, 2010), x 10 ⁶ , (SD-Ratte)	26,9	5990	222,68	0,154	1,03
Anzahl Makrophagen; (Jarabek et al., 2005) x 10 ⁶ (Ratte, ohne Stammangabe)	45	3630	80,67	0,056	0,38
Anzahl Makrophagen , (Pauluhn, 2011) x 10 ⁶ , (Wistar-Ratte)	27	7000	259,26	0,179	1,20
Gesamtmakrophagenvolumen (Geiser, 2010) x 10 ⁶ (F344-Ratte)	639 x 29,1 µm ³	1474 x 5990 µm ³	474,82	0,33	2,21
Gesamtmakrophagenvolumen	1058	1474 x	310,23	0,21	1,41

Normalisierungsmaß	Ratte	Mensch	Verhältnis Mensch/Ratte	HEC/C =DAF retiniert	HEC/C =DAF deponiert
(Geiser, 2010) x 10 ⁶ (SD-Ratte)	x 26,9 µm ³	5990 µm ³			
Gesamtalveolarmakrophagen- volumen Pauluhn (2011), (Krombach et al., 1997)x 10 ⁶ ; (CD-Ratte/ Wistar-Ratte) ²	1166 * 27 µm ³	4990 * 7000 µm ³	1109,52	0,77	5,17
Lungenvolumen [ml] distal (MPPD, 2011) (Long-Evans Ratte)	4,67	3612	773,45	0,53	3,56
Volumen der Atemwege [ml] (MPPD, 2011) (Long-Evans Ratte)	0,45	161,50	358,89		

Es zeigt sich, dass auch bei chronischer Exposition die Normalisierung möglicherweise relevanten Einfluss auf den Interspeziesvergleich hat (Minimalwert HEC/C (retiniert): 0,007; Maximalwert: 0,77). Die Anzahl der Alveoli oder die Anzahl ventilatorischer Einheiten ergeben die größten Abweichungen gegenüber dem Mittelwert. Ob die Anzahl der Makrophagen nach Jarabek et al. (2005) herangezogen werden oder das Gesamtmakrophagenvolumen nach Pauluhn (2011), führt zu einem Unterschied um einen Faktor von ca. 14 (0,77/0,056=13,75). Beim Normalisierungsmaßes „Gesamtmakrophagenvolumen“ sollte (abweichend von der hier vorgenommen Berechnung) nicht die Partikelmasse als Dosismaß gewählt werden sondern das Partikelvolumen (vgl. Abschnitt 4.4).

Die meisten berichteten Normalisierungsmaße wirken sich jedoch nur mit einem Faktor von ca. 2 bis 3 aus. Zwischen dem plausiblen Normalisierungsmaß „Oberfläche Typ II-Zellen“ und dem ebenfalls oft geeignet erscheinenden Normalisierungsmaß: „Makrophagenzahl“ ergibt sich ein Unterschied um den Faktor ca. 5,6. Die Datenquelle und die Unsicherheiten durch Stammesunterschiede könnten einen relativ großen Einfluss auf das Ergebnis haben: zum Beispiel führten zwei unterschiedliche Datensätze zur Anzahl von Makrophagen zu einer Spanne von ca. 3 bei gleicher Normalisierungsbasis, ähnlich auch bei den Annahmen zur Anzahl Alveoli.

Der mögliche Bezug zum Tracheobronchialbereich alleine (Oberfläche oder Volumen) wäre nicht korrekt, weil die deponierte Fraktion sich nicht auf dieses Normalisierungsmaß bezieht (die Werte wurden hier nur einbezogen, um das Verhältnis die-

² Anmerkung: Pauluhn weist die Zahlenwerte für das Alveolarmakrophagenvolumen in leicht abweichender Form aus (vgl. Table 2 in Pauluhn, 2011) und zwar als Alveolarmakrophagenvolumen/Lunge (µg/m³/kg Körpergewicht), nach Korrektur um das Körpergewicht (0,45 kg bei der Wistar-Ratte und 70 kg beim Menschen) ergibt sich bei der oben genannten Gleichgewichtsbeladung der ausgewiesene Wert von 0,77 (HEC/C). Die Ausgangsdaten für das durchschnittliche Alveolarmakrophagenvolumen leiten sich von einer Studie von Krombach et al. ab, dessen Arbeitsgruppe jedoch CD-Ratten verwendete.

ser beiden Normalisierungsmaße zu dokumentieren; in Tabelle nicht schattiert und ohne Angabe von HEC/C).

Bei unserer Auswertung wurden wichtige Voraussetzungen gemacht:

- Die Clearance wurde über einen fixen Faktor berechnet, wie ihn z.B. die MAK-Kommission derzeit für die Ermittlung des GBS-Arbeitsplatzgrenzwerts angegeben hat (vgl. (Hartwig, 2011)). Hier könnten deutlichere Unterschiede zwischen den Spezies auftreten, wenn das MPPD-Verfahren eingesetzt würde.
- Verschiedene weitere wichtige Normalisierungen (wie dasjenige auf die PAR; vgl. Donaldson (2008)) wurden wegen fehlender Vergleichsdaten nicht einbezogen.
- Das Dosismaß im Zähler (Masse) der Dosisdefinition wurde dabei nicht verändert (vgl. hierzu aber Abschnitt 4.4).
- Die Vergleiche wurden auf den pulmonalen Bereich beschränkt – der Einbezug des tracheobronchialen Bereichs würde keine deutlich anderen Ergebnisse zeigen – es ist jedoch hervorzuheben, dass im tracheobronchialen Bereich alleine wegen abweichender Deposition und anderer relativer Clearance gänzlich andere HEC/C – Verhältnisse vorliegen als im pulmonalen Bereich (Brown et al., 2005). Sollte also etwa das Zielgewebe des Menschen im tracheobronchialen Bereich liegen, der des Versuchstiers im pulmonalen Bereich, dann würden sich daraus auch für die Normalisierung fundamentale Verschiebungen ergeben.

Zusammenfassend ist die Frage der „richtigen“ Normierung äußerst schwer zu beantworten. Hierzu müssten der Mechanismus der Kanzerogenese und die betroffenen Zielzellen oder die Bedeutung anderer Bezugseinheiten im Hinblick auf die Wirkung eindeutig bekannt sein. Dies ist oft nicht der Fall. Unter Ausklammerung des Problems der regionalen Differenzierung innerhalb des unteren Atemtrakts und der möglicherweise unterschiedlichen Wirkorte eines Partikels im Tier bzw. im Menschen, zeigen die konkreten vorliegenden Daten zur Normalisierung und ihren Auswirkungen im Interspeziesvergleich, dass die Unsicherheiten sich meist unterhalb einer Größenordnung bewegen.

Bei Bezug auf die deponierte Dosis (statt der retinierten Dosis) ergibt sich für das Verhältnis HEC/C bisweilen ein Wert > 1 , d.h. der Mensch gilt dann (bei dem hier gewählten Beispiel) als unempfindlicher als das Versuchstier: die Annahme gleicher Empfindlichkeit erfordert eine Korrektur des NOAEC_T und den entsprechenden Korrekturfaktor (HEC/C oder DAF), um zu einer humanäquivalenten Konzentration ($\text{NOAEC}_{\text{HEC}}$) zu kommen. Bei der Betrachtung der retinierten Dosis wird HEC/C immer < 1 , der Mensch gilt als empfindlicher.

4.3.2 Nichtkanzerogene Wirkung

Die im Zusammenhang mit krebserzeugender Wirkung angestellten Überlegungen gelten sinngemäß gleichartig für nichtkanzerogene Effekte. Es ist je nach angenommenem Mechanismus an eine andere Normalisierung zu denken, wobei wiederum die Schwierigkeit der ursachengerechten Zuordnung zu einem Zielgewebe besteht.

Da bei schwer löslichen Stäuben die Makrophagenaufnahme der Partikel und die sich daraus ergebende mögliche Entzündung oft sowohl für die krebserzeugende Wirkung einen Einflussfaktor darstellt wie als nichtkanzerogene Wirkung häufig im Vordergrund steht, ist eine gleichartige Normierung zumindest für Stoffe ohne eigene toxische Wirkung (also GBS und Stoffe ohne ausgeprägte spezifische Toxizität) wie bei krebserzeugender Wirkung eine plausible Dosiserfassung.

4.4 Dosismaße

Die Umrechnung einer Konzentration in eine Dosis für den Speziesvergleich erfolgt nach EPA (1994) üblicherweise auf Basis der Massenangabe. Luftkonzentration wie Dosis beziehen sich auf die Masse (Milligramm oder Mikrogramm). Nach MPPD (2011) wird die Masse dabei mit der Dichte gewichtet. Massenangabe und Dichte stammen aus dem Bericht zur tierexperimentellen Expositionskonzentration (vgl. auch Formel in Abschnitt 3). Die Charakterisierung der Partikeleigenschaft wird hier als „Dosismaß“ bezeichnet.

Neben der Masse werden auch andere Dosismaße diskutiert: bei sehr feinen Partikeln wird insbesondere statt der Massenangabe die Ausweisung der Partikeloberfläche vorgeschlagen (Dankovic et al., 2007; Jarabek et al., 2005). Es kommen aber auch Partikelanzahl oder Partikelvolumen als Dosismaße in Betracht.

Es stellen sich wiederum die Fragen, a) was das sinnvollste Dosismaß darstellt, b) wie sich die Auswahl auf den Faktor HEC/C, also den Interspeziesvergleich auswirkt, und c) welche Unsicherheiten mit dem jeweiligen Vorgehen verbunden sind.

Eine Sichtung der Unterlagen führt dazu, dass wir bei der Betrachtung zum Dosismaß keine systematische Unterscheidung für krebserzeugende oder nicht krebserzeugende Wirkungen vornehmen müssen. Es wird jedoch im Folgenden gesondert darauf verwiesen, wenn spezielle Zusammenhänge zwischen Dosismaß und toxikologischem Endpunkt hergestellt wurden.

Ein Vergleich mehrerer Dosismaße auf Basis von Literaturdaten ergab:

- Bei zahlreichen Studien, bei denen statt der Masse die Oberfläche als Dosismaß gewählt wurde, zeigte sich, dass es sich hierbei um den geeigneteren Maßstab handelt (Dankovic et al., 2007; Oberdörster, 1996; Oberdörster et al., 1994; Tran et al., 2000). Allerdings kommt Pauluhn (2011) hier zu einer abweichenden Einschätzung: *„a previous analysis with higher-density particles of different surface areas has demonstrated that the PM mass concentrations and pulmonary inflammation correlated better than the surface area concentrations“*. Nach Jarabek et al (2005) weisen Nagerstudien darauf hin, dass kanzerogene Effekte oder Effekte auf polymorphkernige Leukozyten besser mit der Partikeloberfläche als mit der Partikelmasse korrelieren.
- Bei schwerlöslichen Stäuben, die im Alveolarbereich phagozytiert werden, ist ein Bezug des Partikelvolumens (Dosismaß) zum Makrophagenvolumen (Normalisierung) als geeignete Vergleichsdosis genannt worden. Diese Einordnung basiert darauf, dass ab einer bestimmten Auslastung des Makrophagenvolumens diese in ihrer Mobilität eingeschränkt sind und Substanzen in den angrenzenden Alveolarraum abgeben, die über Entzündungsreaktionen auch ei-

ne krebserzeugende Wirkung besitzen können. Auch ultrafeine Partikel, die keine hohe Dichte besitzen, jedoch volumenmäßig eine relevante Makrophagenbelastung bedeuten, führen zu diesen Effekten (Pauluhn, 2011).

- Bei der Ableitung des neuen MAK-Werts für GBS-Stäube (Hartwig, 2011) wurde als einer der Ansätze die Volumenbelastung der Makrophagen nach dem Vorschlag von Pauluhn (2011) zugrunde gelegt.
- Die Exposition gegenüber der Zahl von Partikeln korrelierte am besten mit einigen Lungenfunktionsparametern bei Patienten mit entsprechend eingeschränkter Funktion (Jarabek et al., 2005).

Auch wenn danach mehrere Hinweise existieren, die dafür sprechen, (auch) andere Dosismaße außer der Masse einzusetzen, ist unklar, wie sich eine solche Veränderung auf die Interspeziesextrapolation auswirkt. Im Folgenden (Tabelle 4-10) nutzten wir eine Auswertung von Brown et al. (2005) um nach dem MPPD-Modell (ältere Fassung) berechnete Faktoren (HEC/C) analysieren zu können. Mit der derzeitigen Version von MPPD ist es nicht möglich, die Partikeloberfläche oder das Partikelvolumen als Dosismaß in die Depositionsberechnung direkt einzusetzen.

Tabelle 4-10: Auswirkungen des Dosismaßes auf die relative Dosishöhe bei Mensch und Versuchstier. Daten nach Brown et al. (2005)

Szenario I:	Speziesvergleich (Mensch/ Ratte) bei gleicher äußerer Partikelexposition über 6 Stunden, leichte Aktivität beim Menschen, Partikeldurchmesser Ac („accumulation mode“, i.e. 0,1-1 µm Durchmesser; oder C („coarse“, i.e., > 1 µm Durchmesser) bei Tier wie Mensch, betrachtet hier nur Alveolarbereich (nicht tracheobronchial); wegen Kurzzeiteexposition kein relevanter Clearanceeinfluss; Ergebnis als Faktor (HEC/C)		
Dosismaß	Normalisierungsmaß	Ac	C
Oberfläche/	Alveolarfläche	2,17	1,22
Partikel/		2,04	1,69
Masse/		2,17	1,20
Szenario II:	Speziesvergleich (Mensch/ Ratte) bei gleicher äußerer Partikelexposition über 6 Stunden, leichte Aktivität beim Menschen (light), oder mittlere Aktivität bei normaler Mund- und Nasenatmung (moderate), Tier Ruheaktivität; Partikelgemisch beim Menschen (breite Partikeldurchmesserverteilung; „re-suspended“ bei Ratte, ebenfalls mit breiter, jedoch nicht identischer, Partikeldurchmesserverteilung); betrachtet hier nur Alveolarbereich (nicht tracheobronchial); wegen Kurzzeiteexposition kein relevanter Clearanceeinfluss; Ergebnis als Faktor (HEC/C)		
Dosismaß	Normalisierungsmaß	light	moderate
Oberfläche/	Alveolarfläche	0,09	0,06
Partikel/		0,00008	0,00004
Masse/		1,39	0,59

Tabelle 4-10 zeigt beim Szenario ohne breite Partikelgrößenverteilung sondern homogenen Partikeldurchmessern, dass die verschiedenen Dosismaße nur zu marginalen Unterschieden in der Speziesextrapolation führen (Faktor 2). Bei Anteilen von

Partikeln, die von Mensch und Tier unterschiedlich gut in der Lunge deponiert werden, kann es jedoch zu gravierenden Divergenzen in der Interspeziesextrapolation kommen. Im Randbereich (z.B. Exposition gegenüber groben Partikeln mit erhöhter Aktivität und Mundatmung beim Menschen) führen die Dosismaße „Partikelanzahl“ und auch „Partikeloberfläche“ zur Ausweisung erheblicher Speziesdifferenzen. (z.B. Faktoren 15 bis 47), vgl. (EPA, 2009). Sicherlich wäre in diesen Fällen eine Dosiswahl auf Basis der Anzahl von Partikeln nicht angemessen, denn bei einem solchen Expositionsszenario wäre der Mensch danach um viele Größenordnungen empfindlicher, was als nicht zutreffend angesehen werden kann. Auch die Wahl der Oberfläche der Partikel als Dosismaß führt unter diesen Nebenbedingungen zu relevanten Unterschieden (Faktor 10-15). Die Analyse zeigt, dass besondere Vorsicht in der Begründung des Dosismaßes notwendig ist und dass auch die Masse/ Oberfläche nicht notwendigerweise die geeignete Dosisbeschreibung ist, um den Interspeziesvergleich angemessen durchführen zu können, wenn die Expositionsprofile Partikel mit sehr heterogener Größenverteilung darstellen.

Es wird jedoch vorgeschlagen, dass beim Menschen im Wesentlichen immer die gleiche Partikelzusammensetzung unterstellt wird, wie sie im Tierexperiment eingesetzt wurde (vgl. Abschnitt 4.5). In diesem Fall scheint sich das Dosismaß meist nicht stark auf den Speziesvergleich auszuwirken. Dennoch sollte natürlich – unabhängig von den Auswirkungen auf den Interspeziesvergleich – versucht werden, die Belastung mit dem geeignetsten Dosismaß zu beschreiben.

Zusammenfassend ergibt sich: die Verwendung der Massenangabe für Partikel als Dosismaß ist in Hinblick auf mechanistische Vorstellungen nach überwiegender Einschätzung in der Literatur nicht optimal. Insbesondere bei schwer löslichen Partikeln, die aus der Lunge vornehmlich über Phagozytose entfernt werden, kann das Partikelvolumen als Dosismaß toxikologisch besser interpretiert werden. Bei Nanopartikeln scheint der Einbezug des Partikelvolumens eine bessere toxikologische Interpretation zu ermöglichen. Bei zugleich toxikologisch aktiven Substanzen (nicht-GBS) oder besser löslichen Substanzen spielen jedoch neben der Phagozytose auch andere Faktoren eine Rolle, bei denen bisher kein mechanistisch interpretierbarer Zusammenhang mit dem Partikelvolumen hergestellt wurde. Die Aussagekraft der Partikeloberfläche und der Partikelanzahl wird für diesen Fall widersprüchlich eingeschätzt. Die Auswahl des Dosismaßes stellt durchaus eine relevante Entscheidung bei der Interpretation tierexperimenteller Daten dar.

Bei der hier vorliegenden Fragestellung, dem Interspeziesvergleich, scheint jedoch dieses Auswahlproblem dann nachrangige Bedeutung zu haben, wenn in der Dosisberechnung für den Menschen die gleiche Partikelcharakteristik und –größenverteilung angenommen wird wie für den Tierversuch. Diese Voraussetzung ist allerdings von zentraler Bedeutung und wird im vorliegenden Rahmen auch vorgesehen (vgl. Abschnitt 4.5). Unter dieser Nebenbedingung führt die Auswahl des Dosismaßes zwar zu einer Unsicherheit mit einem Faktor von ca. 2, der jedoch gegenüber den anderen hier beschriebenen Unsicherheiten nachrangig ist. Vor dem Hintergrund, dass die Daten zu den Partikeln aus tierexperimentellen Datenpräsentationen üblicherweise als Massenangabe vorliegen und da das MPPD-Modell in der uns vorliegenden Version nicht mit Oberflächen- oder Volumendaten rechnen kann, wird vorgeschlagen, dass im Standardfall der Speziesvergleich auf Basis der Mas-

senangabe durchgeführt wird, wobei die Dichte der Partikel durchaus berichtet und berücksichtigt werden sollte (vgl. auch Abschnitt 5.3.2).

4.5 Partikelgrößenverteilungen

Die Partikelgrößenverteilung von partikulären Noxen, wie sie im Tierversuch getestet werden, stimmt nicht zwangsläufig mit den Größencharakteristika der Stäube am Arbeitsplatz überein. Oller und Oberdörster (2010) schlagen eine Berücksichtigung unterschiedlicher Partikelgrößenverteilungen mittels Modellierung mit MPPD vor.

Die Modellierung mit MPPD selbst verlangt eine Charakterisierung der Partikelgrößenverteilung (Angabe, ob mono- oder polydispers, Durchmesser und ggf. Standardabweichung). Mono- bzw. Polydispersität hat – bei gleichem Durchmesser - einen relevanten Einfluss auf die resultierende Dosis (Jarabek et al., 2005). Tabelle 4-11 zeigt die unterschiedlichen berechneten Depositionsfraktionen in Abhängigkeit von Partikelgröße und Dispersität beim Menschen. Feine Partikel mit einer Partikelgröße um 0,2 µm werden im oberen Atemtrakt im Wesentlichen wieder abgeatmet, während in diesem Fall relativ hohe große Fraktionen (16-22%) im TB- und AV-Bereich deponiert werden. Bei größeren Partikeln (10 µm) nimmt die Deposition im unteren Atemtrakt ab (nur noch 1,2 bis 4% im TB- plus AV-Bereich bei einer Partikelgröße von 10 µm bei monodispersen bzw. polydispers vorliegenden Partikeln). Tabelle 4-12 dokumentiert die entsprechenden Ergebnisse für die Ratte. Während die deponierte Fraktion bei einer Partikelgröße von 0,2 µm nahezu identisch ist wie beim Menschen, reduziert sich diese drastisch bei größeren Partikeln, so dass bereits bei einer Größe von 5 µm nur 1-2% deponiert werden.

Tabelle 4-11: Mit MPPD* berechnete Depositionsfraktionen in Abhängigkeit von Partikelgröße und Dispersität (ET: extrathorakal, TB: tracheobronchial, AV: alveolär) beim Menschen

Geometrische Standardabweichung (GSD)	1 (monodispers)	2 (polydispers)	3 (polydispers)
Partikelgröße 0,2 µm			
ET	0,05	0,07	0,1
TB	0,05	0,06	0,07
AV	0,11	0,13	0,15
Partikelgröße 1 µm			
ET	0,29	0,35	0,39
TB	0,04	0,04	0,04
AV	0,08	0,09	0,1
Partikelgröße 5 µm			
ET	0,9	0,82	0,72
TB	0,02	0,02	0,02
AV	0,06	0,06	0,05
Partikelgröße 10 µm			
ET	0,94	0,83	0,70
TB	0,01	0,01	0,01
AV	0,003	0,02	0,04

*Einstellungen: Yeh/Schum-5 lobe model, Dichte 1 g/cm³, Konzentration 1 mg/m³, Oronasal normal augmenter, Inhalierbarkeitsanpassung ja, Aktivität: 19L/min, sonst default

Tabelle 4-12: Mit MPPD* berechnete Depositionsfractionen in Abhängigkeit von Partikelgröße und Dispersität (ET: extrathorakal, TB: tracheobronchial, AV: alveolär) bei der Ratte

Geometrische Standardabweichung (GSD)	1 (monodispers)	2 (polydispers)	3 (polydispers)
Partikelgröße 0,2 µm			
ET	0,044	0,063	0,11
TB	0,022	0,027	0,0336
AV	0,117	0,13	0,14
Partikelgröße 1 µm			
ET	0,218	0,33	0,38
TB	0,021	0,02	0,016
AV	0,058	0,056	0,055
Partikelgröße 5 µm			
ET	0,6	0,58	0,52
TB	0,0004	0,0038	0,008
AV	0,0003	0,0066	0,016

*Einstellungen: Assym. multiple path model, Dichte 1 g/cm³, Konzentration 1 mg/m³, nasal, Inhalierbarkeitsanpassung ja, sonst: default

Im Grundsatz bestätigt sich demnach, dass sich die Partikelgrößenverteilung relevant auf den Interspeziesvergleich auswirken kann, insbesondere dann, wenn sich die Verteilungen im Tierexperiment und diejenige am Arbeitsplatz unterscheiden.

Es wird dennoch vorgeschlagen, bei der Angabe eines allgemeingültigen Partikelgrenzwerts keine entsprechende Anpassung vorzunehmen, wie sie von Oller und Oberdörster (2010) diskutiert wird.

Bei diesem Ansatz wird nämlich die bestehende Ungenauigkeit durch eine neue Unsicherheit ersetzt: es wird damit zur Voraussetzung gemacht, dass alle zurzeit bestehenden und künftig möglichen Partikelgrößenverteilungen am Arbeitsplatz für die betreffende Substanz bekannt und bei solchen Korrekturfaktoren angemessen berücksichtigt sind. Für eine Substanz würden sich je nach tatsächlichem Expositionsprofil unterschiedliche Arbeitsplatzgrenzwerte ergeben. Dieses Vorgehen wird daher als nicht angemessen handhabbar eingeordnet. Das schließt nicht aus, dass ein solches Vorgehen für eine Gefährdungsbeurteilung im Einzelfall geeignet sein könnte.

Stattdessen sollte in der Regel die Originalpartikelverteilung aus dem Tierexperiment als Ausgangsbasis für die Ermittlung der humanäquivalenten Konzentration herangezogen werden, wenn eine Exposition-Risikobeziehung ermittelt werden soll. Es ist dann transparent zu machen, dass für eine realistische Gefährdungsabschätzung je nach Partikelgrößenzusammensetzung abweichende Partikeldeposition und –retention auftreten können, die ein verändertes Gesundheitsrisiko beinhalten können.

Insbesondere dann, wenn im Tierexperiment Partikelverteilungen eingesetzt werden, bei denen begründet von einer Risikounterschätzung ausgegangen werden muss

(zum Beispiel: monodisperse Verbindungen), so wäre auf diesem Umstand hinzuweisen und dem ggfls. jenseits des Standardvorgehens Rechnung zu tragen.

4.6 Clearance bei schlecht löslichen Substanzen

Das Ausmaß der Retention ist durch die Clearance bestimmt:

$$\text{Retention} = \text{Deposition} - \text{Clearance}$$

Die Ausgangsfrage beim Speziesvergleich lautet, ob die gleiche *deponierte* Dosis die gleiche Wirkung bei Tier und Mensch erzielt oder ob die gleiche *retinierte* Dosis zur gleichen Wirkung führt. Diese Fragen führen dann zu unterschiedlichen Antworten, wenn es bei der Retention relevante Speziesunterschiede gibt.

Wie unten zu zeigen ist, ergeben sich beim Menschen bei schwer löslichen Partikeln längere Retentionszeiten im Vergleich zum Versuchstier, so dass nach Berücksichtigung der Clearance die HEC kleiner als die entsprechende Konzentration im Tierversuch ist ($\text{HEC}/C < 1$).

Wie oben für den Vergleich kanzerogener Effekte gezeigt, kamen jedoch verschiedene Autoren (Kuempel et al., 2009; Roller et al., 2006; Sanner and Dybing, 2005) sowohl in Gegenüberstellung der äußeren Exposition wie nach Berechnung der retinierten Dosis zu etwa gleicher Empfindlichkeit der Spezies, jeweils bei Lebenszeitbeurteilung.

Daraus lässt sich einerseits schlussfolgern, dass durch die Clearance-Unterschiede im Durchschnitt vermutlich keine sehr großen Speziesdifferenzen begründet werden können, andererseits lässt sich aber auch nicht eindeutig angeben, was das bessere Vergleichsmaß darstellt: die deponierte oder die retinierte Dosis. Es wäre denkbar, dass der Organismus des Menschen wesentlich besser an die längeren Verweilzeiten von Partikeln in der Lunge angepasst ist, so dass dann der korrekte Vergleich – zumindest bei krebserzeugender Wirkung oder anderen Langzeiteffekten – keine gesonderte Korrektur um den Clearancefaktor berücksichtigen müsste. Wird dagegen vorausgesetzt, dass eine Korrektur um die toxikokinetischen Differenzen zwischen Tier und Mensch vorgenommen werden müsse, dann aber im Durchschnitt gleiche Empfindlichkeit im Vergleich zwischen den Spezies bestehe, so muss eine Korrektur hinsichtlich der Clearance-Differenzen erfolgen.

Es gibt keine Möglichkeit, diese zentrale Unsicherheit aufzulösen.

4.6.1 Tracheobronchiolare Clearance

Die mukoziliäre Clearance erfolgt auch bei schlecht löslichen Partikeln überwiegend relativ schnell (24-48h nach der Inhalation) beim Menschen. Allerdings gibt es eine Fraktion, die weitaus längere Halbwertszeiten aufweist; dieser Anteil ist umso höher, je kleiner die entsprechend deponierten Partikel sind. Die genaue Erfassung und Abgrenzung gegenüber der Clearance aus dem Alveolartrakt stößt auf Schwierigkeiten (EPA, 2009). In einer älteren Dokumentation mit Gültigkeit nur für Partikelgrößen $> 0,5 \mu\text{m}$ wurde von der EPA ein Interspeziesfaktor von 0,3 (geringere Empfindlichkeit des Menschen gegenüber der Ratte) vorgeschlagen, wenn nur der Tracheobronchialbereich betroffen war (Kalberlah et al., 1999). Das MPPD-Modell bietet die Mög-

lichkeit, regional retinierte Fraktionen zu erfassen. In einer Auswertung der EPA (EPA, 2004) ergaben sich ebenfalls Interspeziesfaktoren, die auf eine deutlich niedrigere retinierte Dosis beim Menschen im Vergleich zum Versuchstier hinweisen, wenn der Tracheobronchialraum isoliert betrachtet wird (vgl. dort Tabelle 7A-7a). Wegen der unklaren Zuordnung von langsamer Clearance zum Alveolar- bzw. Tracheobronchialbereich ist jedoch der isolierte Speziesvergleich für die tracheobronchiolare Region mit hohen Unsicherheiten verknüpft (EPA, 2009) und wird im vorliegenden Fall nicht mit einem Standardverfahren in Verbindung gebracht.

4.6.2 Alveoläre Clearance

Wegen der schnelleren Clearance bei der Ratte im Vergleich zum Menschen werden Gleichgewichtsbedingungen (steady state: deponierte Partikelmenge = durch Clearance entfernte Menge) bei der Ratte schneller erreicht. Um einen Speziesvergleich unter chronischen Expositionsbedingungen durchführen zu können, werden daher die retinierten Mengen bei Ratte und Mensch zu äquivalenten Zeiten verglichen. Diese werden über die jeweiligen Eliminationshalbwertszeiten bestimmt.

4.6.2.1 Berechnung mit MPPD

Die Modellierung mit MPPD berücksichtigt die Clearance in differenzierter Form. Je nach Depositionsbereich in der Lunge werden unterschiedliche Clearanceraten angenommen, die zum Beispiel bei ICRP (1994) oder bei Snipes (1989) dokumentiert sind. Für die Ratte wird dabei im Standardfall eine Clearancerate angenommen, die schon bei sehr geringen Dosen einen Einfluss der Dosis berücksichtigt. Beim Menschen werden sehr lange Halbwertszeiten zu Grunde gelegt. Details sind Abschnitt 5.3.4 zu entnehmen. Eine der Unsicherheiten beim MPPD-Modell liegt darin, dass bei diesem Ansatz die ins lymphatische Gewebe übergehenden Partikel mit in die Gesamtclearancedauer einbezogen werden. Bei anderen Clearancebetrachtungen wird angenommen, dass mit dem Übergang in das Interstitium und von dort in das lymphatische Gewebe die Partikel den betrachtungsrelevanten Raum für die Lungenbelastung verlassen („Excretory pathway“). Es zeigt sich, dass im Speziesvergleich bei chronischer Belastung beim Menschen deutlich mehr Anteile der Partikelbelastung in den lungenassoziierten Lymphknoten verbleiben, so dass die jeweilige Betrachtungsweise zu relevanten Speziesdifferenzen beiträgt (vgl. Figure 13 in Snipes (1989)).

Jarabek et al. (2005) führen zum MPPD-Modell aus: *„A simple relationship for DAF [Dosimetrieangepassungsfaktor] ... cannot be deduced when the dose metric is based on the retained mass in a region of the lung. In this case, a dosimetry model must be employed to calculate particle retention and related dose metrics for a region of the respiratory tract in humans and laboratory animals that explicitly incorporates the entire exposure scenario for each species.“* Darüber hinaus sind die einzelnen Schritte jedoch in den Dokumentationen zum MPPD-Modell nicht genau nachzuvollziehen. Das Ergebnis ist über eine Beispielsrechnung zu ermitteln, stellt jedoch wegen der direkten Verknüpfung mit der Deposition ein „Bruttoergebnis“ dar, das sowohl einen Einfluss über die Deposition wie einen Einfluss über die Clearance enthält.

Zur Verdeutlichung haben wir die retinierte Dosis im Gleichgewichtszustand für ein Beispiel berechnet. Die Modellierung mit MPPD zeigt, dass bei der Ratte bei Exposition gegenüber schwerlöslichen Aerosolen Gleichgewichtsbedingungen annähernd bereits nach etwa 1 Jahr erreicht werden (Abbildung 4-3), während beim Menschen ein starker Anstieg in den ersten 10 Jahren erfolgt, aber selbst noch nach 40 Jahren Exposition ein Anstieg der retinierten Masse sichtbar ist. Im Speziesvergleich ergeben dadurch sich große Differenzen.

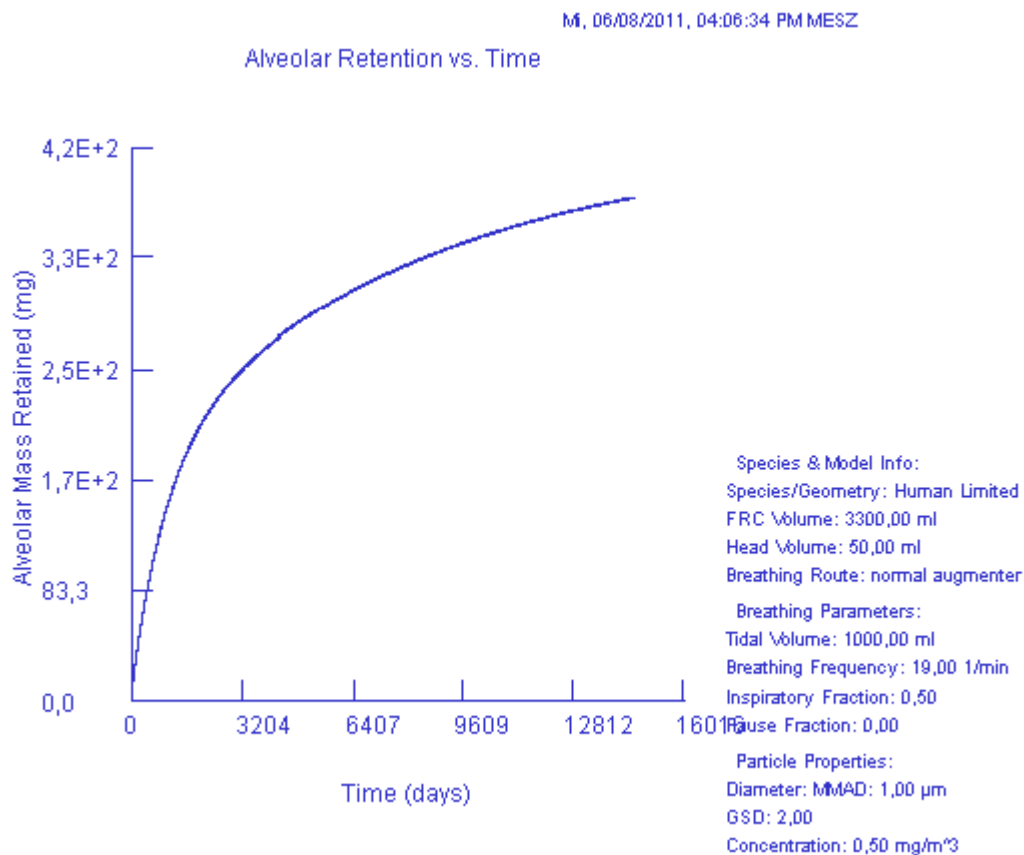


Abbildung 4-2: Verlauf der im Alveolarbereich retinierten Partikelmasse beim Menschen, modelliert mit MPPD v.2.11 (Expositionsmuster 8 h/d, 5 d/w, 40 Jahre)

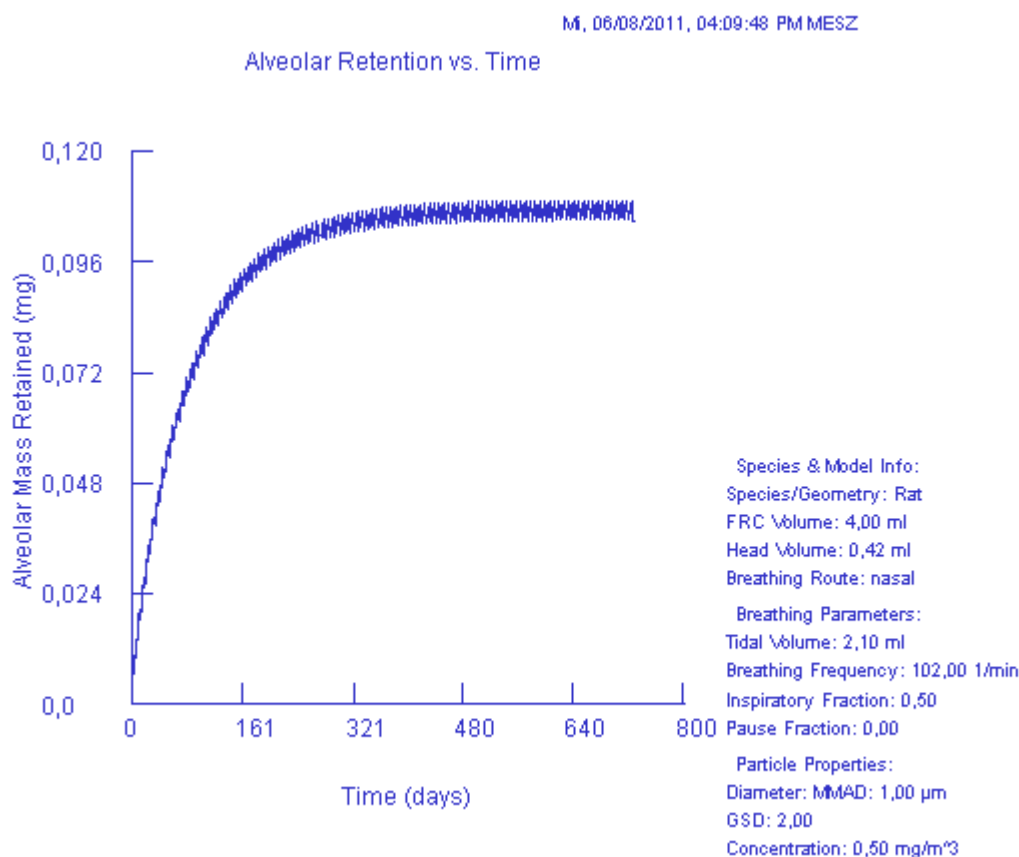


Abbildung 4-3: Verlauf der im Alveolarbereich retinierten Partikelmasse bei der Ratte, modelliert mit MPPD v.2.11 (Expositionsmuster 6 h/d, 5 d/w, 2 Jahre, Partikelcharakteristika wie oben)

Die formale Durchrechnung mit dem MPPD-Modell unter Einschluss der dort vorgenommenen Clearance-Annahmen kann bei Normalisierung auf die Lungenoberfläche und mit der Partikelmasse als Dosismaß zu kaum vorstellbaren Unterschieden zwischen den Spezies führen, bei denen der Mensch bei nahezu lebenslanger Exposition (70 Jahre) – je nach betrachtetem Partikeldurchmesser – bis ca. 300-fach empfindlicher als das Versuchstier wäre. Entsprechende Zahlen präsentieren z.B. Jara-bek et al. (2005) gemessen als Faktor HEC/C_T (vgl. dort Abbildung 6 (B)).

Mehrere andere dosimetrische Vergleiche (Hartwig, 2011; Kuempel et al., 2009; Pauluhn, 2011) verwenden das MPPD-Modell zwar zur Erfassung der Deposition, benutzen aber zur Berechnung der retinierten Dosis abweichend andere Methoden.

4.6.2.2 Berechnung über einfache Clearance-Funktion

Bei Hartwig (2011) wird die Clearance über die Funktion

$$\text{Clearance} = -\ln(0,5) / \text{Eliminationshalbwertszeit}$$

berechnet. Für eine durch toxische Effekte oder durch Überladung nicht beeinflusste Halbwertszeit werden für die Ratte 60d und für den Menschen 400d unterstellt. Die Zeit für die Ratte wurde dabei vereinfacht aus zwei Phasen gemittelt, die Snipes

(1989) mit 25 Tagen (90%) und 210 Tagen (10%) aus mehreren Datensätzen mittelt. Für den Menschen liefert Snipes ebenfalls Halbwertszeiten von 30 Tagen (30%, Phase 1) und 700 Tagen (70%, Phase 2), wobei für die zweite Phase Datensätze mit einer Spanne zwischen 150 und 2500 Tagen zugrunde liegen. Daraus wurde bei Hartwig (2011) der Wert von 400d als Eliminationshalbwertszeit gemittelt.

Die Clearance für die Ratte beträgt danach

$$\text{Clearance}_T = -\ln(0,5)/60 \text{ d} = 0,0116 \text{ pro Tag}$$

Für den Menschen ergeben sich entsprechend:

$$\text{Clearance}_H = -\ln(0,5)/400 \text{ d} = 0,00173 \text{ pro Tag,}$$

so dass CL_T/CL_H ein Verhältnis von ca. 6,7 ergibt.

4.6.2.3 Pauluhn (2011)

Pauluhn (2011) schlägt für wenig toxische und wenig lösliche Partikel vor, einerseits das Partikelvolumen als Dosismaß zu verwenden, andererseits eine Normalisierung auf das Makrophagenvolumen vorzunehmen. Er zeigt mit der so definierten Dosis, dass bei schwer löslichen Partikeln (GBS) keine relevante Speziesdifferenz durch die Clearance im Verlaufe des Lebens auftritt. Pauluhn berücksichtigt die gleichen Eliminationshalbwertszeiten wie Hartwig (2011) und gewichtet diese mit dem Partikelverteilungsvolumen im Gesamtpool der Alveolarmakrophagen (Pauluhn, 2011). In diesem Fall ergibt sich keine wesentliche Differenz in den gewichteten Clearanceeigenschaften der unterschiedlichen Spezies. Als toxikokinetischer Adjustierungsfaktor ($AF_{\text{clearance -A/H}}$) für die Clearedifferenzen zwischen Versuchstier und Mensch ergibt sich ein Wert nahe 1 ($AF_{\text{clearance -A/H}} = 0,93$).

4.6.2.4 Schlussfolgerungen

Es ist nicht eindeutig anzugeben, ob ein Speziesvergleich für schwer lösliche Stäube auf Basis der retinierten oder der deponierten Dosis durchgeführt werden soll. Die Antwort hängt von der Frage ab, unter welchen Bedingungen eine gleiche Empfindlichkeit von Mensch und Tier angenommen wird. Pauluhn (2011), der für den Toxizität und die Kanzerogenese bei schwer löslichen und wenig toxischen Partikeln einen bestimmten Mechanismus unterstellt, erhält unter seinen Nebenbedingungen einen vernachlässigbaren Einfluss der Clearanceunterschiede auf den Speziesvergleich, wobei dafür auch Dosismaß und Normalisierung dem angenommenen Mechanismus angepasst sein müssen. Es erscheint durchaus möglich, dass über die Berücksichtigung der Retention ein überkonservativer Maßstab für den Speziesvergleich gewählt wird. Insbesondere bei der Nutzung des MPPD-Modells kann der Mensch um Größenordnungen empfindlicher als das Versuchstier erscheinen. Datensätze, die einen direkten Speziesvergleich ermöglichen, geben keine klare Auskunft darüber, ob die Retention einzubeziehen ist oder nicht (Kuempel et al., 2009; Roller et al., 2006; Sanner and Dybing, 2005). Sie sprechen aber gegen Empfindlichkeitsunterschiede um mehrere Größenordnungen, wie sie unter Umständen mit dem MPPD-Modell berechnet werden können. Zwar ist die Transparenz des MPPD-Modells an dieser Stelle unzureichend, es kann jedoch nicht von eindeutigen Fehlern ausgegangen werden, so dass die Ergebnisse dieser Modellrechnung auch die Unsicherheit des Inter-

speziesvergleichs bei der Clearance charakterisieren. Auch die Dokumentation der großen Spanne berichteter Eliminationszeiten beim Menschen aus Snipes (1989) belegt die Unsicherheit. Der Autor betont zusammenfassend: „*The bases for species differences in retention and clearance are not understood*“ und meint, dass erst in der Zusammenschau mehrerer Datensätze vernünftige Extrapolationen möglich würden.

Wir schlagen vor diesem Hintergrund vor, zwar die Clearancedifferenzen grundsätzlich zu berücksichtigen, jedoch die vereinfachte Rechnung, wie sie z.B. bei Hartwig (2011) vorgenommen wird, bei dem Speziesvergleich zu Grunde zu legen. Auf diese Weise wird zwar eine vorsichtige Herangehensweise gewählt, deren Notwendigkeit nicht sicher zu belegen ist, die jedoch eine gewisse Plausibilität besitzt. Wie zum Beispiel anhand des vorgeschlagenen Staubgrenzwerts (GBS-Stäube) der DFG zu erkennen ist (Hartwig, 2011), liegt der Unterschied im Wert HEC/C zum gut begründeten, jedoch weniger konservativen Ansatz von Pauluhn (2011) bei weniger als 1 Größenordnung.

4.7 Berücksichtigung der Clearance bei löslichen Verbindungen

In den meisten Betrachtungen dieser Studie zu Speziesunterschieden bei der Bewertung von Stäuben und Aerosolen sind wir von schwerlöslichen Stäuben ausgegangen. Leichtlösliche Verbindungen besitzen in vielen Fällen keine spezifische Lungentoxizität, werden gut - z.B. über die Lungenepithelien - aufgenommen und stehen dann systemisch zur Verfügung, wo ihre Toxizität nach im AGW-Konzept bzw. im Leitfaden für Kanzerogene dargestellten Prinzipien bewertet werden kann.

Es gibt jedoch auch Partikel und Aerosole, die ihre dominierende Wirkung im Respirationstrakt entfalten können, bei denen es sich nicht notwendigerweise um schwerlösliche Partikel handelt. Aber auch schwerlösliche Partikel sind nicht notwendigerweise inert. Zum Beispiel sind viele schwerlösliche Metallverbindungen toxisch. Bei jeder Einzelverbindung ist zu prüfen, ob es sich um einen „reinen“ Partikeleffekt handelt oder ob andere Mechanismen im Vordergrund stehen/ die Partikelwirkung begleiten und möglicherweise gerade in einem Konzentrationsbereich, in dem die unspezifische Partikelwirkung keine Rolle mehr spielt, ihre substanzspezifische lokale Wirkung ausüben. In diesem Sinne ist z.B. auf die Oberflächenaktivität von Quarz zu verweisen. Am Beispiel von Antimontrioxid lässt sich zeigen, dass diese schwerlösliche Substanz einerseits von Makrophagen aufgenommen wird, andererseits aber auch auf diese offensichtlich in spezifischer Weise so wirkt, dass die Makrophagenaktivität gravierend inhibiert wird, ohne dass ein unspezifischer Partikelüberladungseffekt der Makrophagen (vgl. Abschnitt 4.8) vorliegt (vgl. ERB-Konzept Antimon, UAIII, Juni, 2011, Entwurf).

Bei leichtlöslichen Substanzen wird zunächst an eine sehr gute Wasserlöslichkeit gedacht, wobei

- die Wasserlöslichkeit keinesfalls mit der biologischen Aktivitätsgrenze und der möglichen langfristigen Bioverfügbarkeit im Respirationstrakt übereinstimmen muss,

- schlecht wasserlösliche Substanzen sich unter Umständen dennoch gut in der Alveolarflüssigkeit lösen lassen, wie unter anderem an Cadmiumverbindungen gezeigt wurde.

Lösliche Partikel oder lösliche Bestandteile von Partikeln werden aus dem Atemtrakt meist durch eine systemische Aufnahme entfernt. In den mit Zilien ausgekleideten Atemwegen erfolgt die Clearance durch einen mukoziliären Transport und Diffusion in die darunterliegenden Gewebe und den Blutkreislauf. In den Alveolen kommt es auf Grund der dünnen Membran zu einer raschen Aufnahme in das Blut (EPA, 2009). Die Absorption von löslichen Partikeln erfolgt innerhalb weniger Minuten bis Stunden und ist abhängig vom Molekulargewicht und der Löslichkeit in Wasser oder der Lungenflüssigkeit. Die Clearance von hydrophilen Verbindungen ist diffusionslimitiert durch die Porengröße im Bereich der interzellulären Tight-junctions. Der Transport von lipophilen Verbindungen über die Zellmembran ist perfusionslimitiert und in der Regel ebenfalls sehr schnell. Als dritter Aufnahmeweg wird die Pinozytose in Epithelzellen beobachtet (EPA, 2009).

Bei gut löslichen Substanzen wird derzeit somit meist davon ausgegangen, dass hinsichtlich der Clearance keine Speziesdifferenzen bestehen: die Entfernung aus der Lunge scheint in der Regel schnell und ähnlich in allen Säugern zu erfolgen.

Lösliche Partikel können aber auch in der Lunge verweilen, z.B. indem sie an Proteine oder andere Komponenten des Flüssigkeitsfilms an der Oberfläche der Atemwege binden (WHO, 2006). Bei löslichem Cadmiumchlorid ist eine deutliche Speziesdifferenz in der Clearance bei chronischer Exposition zwischen Nagern, Hund und Affen bekannt, die mit einer solchen Proteinbindung an Metallothionein erklärt wird. Die Speziesdifferenzen in der Clearance ähneln denen wie bei schwer löslichen Substanzen (Oberdörster, 1988).

Auf dem Hintergrund dieser Befunde zu Cadmiumchlorid wurden Angaben zu weiteren Substanzen überprüft:

- Snipes (1989) berichtet: *„there are other reports indicating that presumably soluble constituents of inhaled particles are retained for longer periods of time in the lung than would be predicted on the basis of their solubility. Examples of such inorganic materials are beryllium and americium. The authors interpretation of the prolonged retention of these materials in the lung was that the particles did dissolve, but their constituents absorbed to, or chemically reacted with, tissue constituents. Therefore, the deposited materials, or some form of the materials, were retained near the site where deposition occurred. This same phenomenon occurs with organic materials. For example, covalent binding of benzo(a)pyrene or metabolites to cellular macromolecules resulted in an increased pulmonary retention time for that compound after inhalation exposures to rats. Certain chemical dyes are also retained in the lung and they may dissolve and become associated with lipids or react with other constituents of lung tissue.“*
- Hsieh et al. (1999b) modellierten die Deposition und Clearance von Nickelverbindungen beim Menschen basierend auf ihren Berechnungen zur Dosimetrie

bei der Ratte (Hsieh *et al.*, 1999a). Für das lösliche Nickelsulfat wurden vergleichbare Retentionshalbwertszeiten von ca. 2 h bei Mensch und Ratte kalkuliert. Der Mensch retiniert nach diesen Berechnungen Nickelsubsulfid jedoch deutlich länger (Halbwertszeit ca. 590 Tage) als die Ratte (ca. 90 Tage, die über der für unlösliche Partikel liegt, ca. 54 Tage). Bei diesen Berechnungen wurde eine niedrige Lungenbelastung zu Grunde gelegt. Nickelsubsulfid besitzt im extrazellulären Raum eine mittlere Löslichkeit (Goodman *et al.*, 2011), auch wenn die Wasserlöslichkeit in kaltem Wasser gering ist (ATSDR, 2003).

- In einer Übersichtsarbeit verglich Pepelko (1987) die Lungenclearance von Partikeln in Menschen und Labortieren. Die meisten Daten beziehen sich auf schwer lösliche Partikel und bestätigen die bereits genannten Speziesunterschiede. Bei den Partikeln, bei denen ein direkter Speziesvergleich innerhalb einer Studie durchgeführt wurde, ist keine lösliche Substanz dabei. Als einzige lösliche Substanz finden sich in der Übersicht Daten zu Bariumsulfat aus verschiedenen Untersuchungen. Die Clearancehalbwertszeit bei der Ratte wird mit 2,5 und 3 Tagen und beim Hund mit 2,5 und 8 Tagen angegeben, wobei die Partikeldurchmesser in den Hundestudien kleiner als in den Rattenstudien waren. Diese Daten deuten auf eine beim Hund im Vergleich zur Ratte verminderten Clearance hin.
- Untersuchungen von McKenna *et al.* (1998) an Wistar-Ratten, C57- und DBA-Mäusen bestätigen Befunde von Oberdörster zur Induzierbarkeit von Metallothionein in der Lunge bei Ratten und Mäusen. McKenna *et al.* (1998) beobachteten nach einmaliger Cadmiumoxidexposition spezies- und stammsspezifische Unterschiede in der Induzierbarkeit von Metallothionein, wobei auch in dieser Studie bei Mäusen insgesamt eine stärkere Induktion zu beobachten war als bei Ratten. Metallothioneinexpression spielt (fast) keine Rolle bei der nickelinduzierten Krebsentstehung (Waalkes *et al.*, 2004).
- Untersuchungen von Wallenborn *et al.* (2007) an Ratten, die mittels intratrachealer Instillation gegen einen Staub aus der Ölverbrennung exponiert waren, bestätigen, dass die systemische Aufnahme der aus den Partikeln herauslesbaren Metalle mit deren Löslichkeit in Wasser oder Säuren korreliert. Die Untersuchungen lassen jedoch keine Aussagen darüber zu, inwieweit die Bioverfügbarkeit z.B. durch Interaktionen mit endogenen Proteinen beeinflusst wurde. In einer weiteren Arbeit konnte die Gruppe um Wallenborn (2009) nachweisen, dass Zink, welches in Form des radioaktiv markierten leicht löslichen Zinksulfats mittels intratrachealer Instillation an Ratten verabreicht wurde, zwar systemisch verfügbar ist, aber nur langsam aus der Lunge eliminiert wurde: Mehr als 50% der verabreichten Dosis waren 4 h nach der Applikation noch in der Lunge nachweisbar. Diese verstärkte Retention wurde von den Autoren auf eine Bindung an Lungenproteine zurückgeführt.

Auf Basis der hier vorgestellten Analyse ist im Standardfall nicht hinreichend sicher davon auszugehen, dass lösliche Substanzen in jedem Fall schnell aus der Lunge entfernt werden und dass somit keine Speziesdifferenzen in der lokalen Retention zwischen den Spezies zum Tragen kommen. In einer jüngeren Präsentation von

Oberdörster beim Bundesverband der Deutschen Industrie im Jahr 2010 schlug der Autor (entsprechend allgemein üblichem Verständnis) vor, die gesamte Clearance in einen Teil der „mechanical clearance“ und in einen Teil der „dissolution clearance“ zu unterteilen, aber schließlich doch eine Mittelwertbildung vorzunehmen (Oberdörster, 2010). Bei der „dissolution clearance“ wird unterstellt, dass diese bei Mensch und Tier gleich sei, während bei der „mechanical clearance“ die Speziesunterschiede eingehen, wie sie für wenig lösliche Partikel berücksichtigt werden müssen. Der Einfluss der beiden Teilfaktoren könnte nach dem Ausmaß der Löslichkeit gewichtet werden (so bei Oberdörster, 2010, nicht diskutiert). Ein pragmatischer Ansatz könnte darin bestehen, bei mittlerer Löslichkeit eine insgesamt etwas verkürzte Eliminationshalbwertszeit anzunehmen. Diesen Ansatz hat die EPA bereits 1996 verfolgt und einen Faktor 2 dafür herangezogen (EPA, 1996; Kalberlah et al., 1999)

Wir schlagen vor, die in REACH genannten Abstufungen der Wasserlöslichkeit für ein solches Kriterium heranzuziehen (vgl. Tabelle 4-13):

Tabelle 4-13: Wasserlöslichkeit nach REACH und mögliche Zusammenfassung von Löslichkeitsgruppen zur Berücksichtigung von Clearance-Unterschieden

Einordnung	Wasserlöslichkeit [20°C]	Hier vorgeschlagene Gruppenbildung:
insoluble	<0,1 mg/L	Schlecht löslich
Slightly soluble	0,1-100 mg/L	
Moderately soluble	100 – 1000 mg/L	Mäßig löslich
Soluble	1000-10000 mg/L	
Very soluble	>10000 mg/L	Gut löslich

Es ist zu beachten, dass bei nahezu unlöslichen Substanzen dennoch größere Anteile beim Menschen in Zeiträumen über zum Beispiel 5 bis 10 Jahren (Verweildauer in der Lunge) gelöst werden als bei der Ratte bei Verweildauern von zum Beispiel 2 bis 5 Monaten. Insofern wirkt sich die Löslichkeit auch bei schlecht löslichen Substanzen beim Menschen stärker aus als bei der Ratte und verkürzt möglicherweise die Clearancedauer gegenüber den modellierten Werten.

Darüber hinaus sollte bedacht werden, dass die Reaktion mit Proteinen, die teilweise zu dieser Retentionszeitverlängerung führen, nicht einfach gleichzuordnen ist mit einer längeren Verfügbarkeit der Substanz im Respirationstrakt. Einerseits wurde die Substanz nicht aus dem relevanten Bereich eliminiert, andererseits kann die Proteinbindung auch eine Inaktivierung darstellen oder die Wirksamkeit des betrachteten Stoffs verändern.

4.8 Overload

Im Tierexperiment kann leichter als beim Menschen ein Überladungseffekt in der Lunge auftreten, die Clearance beeinträchtigen und zu nichtkanzerogenen und kanzerogenen Effekten führen.

Hohe Exposition gegenüber schwerlöslichen Partikeln wie z.B. TiO_2 und Kohlestaub führten in Inhalationsversuchen mit Ratten zu Lungentumoren (ILSI, 2000). Die starke Beaufschlagung der Tiere bewirkt eine Beeinträchtigung der alveolären Clearance, offensichtlich durch Überladung der Alveolarmakrophagen. Für diese „lung overload“ genannte Situation ist offensichtlich das Partikelvolumen im Verhältnis zum Volumen der Makrophagen das wesentliche Kriterium. Overload geht mit einsetzenden Entzündungsprozessen einher.

Lungentumoren nach Expositionen, die zu overload führten, wurden bei Ratten, nicht jedoch bei Mäusen und Hamstern beobachtet. Ihre Bedeutung für den Menschen ist schwer zu beurteilen (EPA, 2009; Miller, 2000).

Handelt es sich um „reine“ Overloadeffekte, so sind Beobachtungen im entsprechenden Konzentrationsbereich aus dem Tierexperiment für die quantitative Bewertung von Effekten nicht verwendbar. Für die Bewertung ist dann von dem Konzept auszugehen, wie es von Seiten der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) für GBS erarbeitet wurde. Hier kann stoffunabhängig ein allgemeingültiger Schwellenwert über das HEC-Konzept begründet werden. Gegen einen reinen Overloadeffekt sprechen biologische Wirkungen, die bei oder unterhalb des GBS-Schwellenwerts vorgefunden werden.

Liegen in höheren Konzentrationen Effektbeobachtungen vor, bei denen ein wesentlicher Overload-Effekt auszuschließen ist, so können die Daten für den Speziesvergleich herangezogen werden. Ist dabei die Clearance im Tierversuch beeinträchtigt (in diesem Falle nicht durch den unspezifischen Overload-Effekt, sondern durch stoffspezifische Beeinträchtigung), so wird daraus keine Veränderung der Speziesdifferenzen abgeleitet: entsprechende Effekte im höheren Konzentrationsbereich werden ohne zusätzliche Korrektur auf den Menschen übertragen.

Liegen in höheren Konzentrationen Effektbeobachtungen vor, bei denen ein Overload-Effekt als Teilursache angesehen wird, so können die Daten mit größerer Unsicherheit für eine quantitative Bewertung herangezogen werden, wobei bewusst ist, dass auf Basis der tierexperimentellen Daten eine gewisse Risikoüberschätzung für den Menschen erfolgt. Dem kann nur außerhalb des Standardverfahrens Rechnung getragen werden.

5 Dosimetrische Modellierung

5.1 HEC-Konzept der U.S. EPA

Dosimetrische Anpassungen zur Ableitung von gesundheitlichen Beurteilungswerten für die Exposition des Menschen gegenüber Stäuben wurden erstmals von der US Environmental Protection Agency (EPA) 1994 eingeführt (EPA, 1994; Jarabek, 1994). Zur Ableitung einer Referenzkonzentration (RfC, reference concentration) werden ausgehend von einer Konzentration ohne Effekte im Tierversuch ($\text{NOAEC}_{\text{exp}}$) zwei Anpassungsschritte vorgesehen:

- Anpassung unterschiedlicher Expositionszeiten und -schemen im Tierversuch im Vergleich zur menschlichen Zielpopulation
- Korrektur bezüglich unterschiedlicher Zielgewebskonzentrationen wegen Unterschiede in Deposition und/oder Clearance von Partikeln zwischen den Spezies.

Durch diese Anpassungen wird eine Expositionskonzentration ($\text{NOAEC}_{\text{HEC}}$) errechnet, die zu einer Zielgewebskonzentration beim Menschen führt, die der Zielgewebskonzentration im Tierversuch (bei $\text{NOAEC}_{\text{exp}}$) äquivalent ist. $\text{NOAEC}_{\text{HEC}}$ stellt also die humanäquivalente Konzentration („human equivalent concentration“, HEC) für eine Konzentration ohne beobachtete nachteilige Effekte dar.

Statt einer No-observed-adverse-effect-Konzentration (NOAEC) kann anhand der Dosis-Wirkungsdaten im Tierversuch auch eine Benchmarkdosis, eine EC50 oder ähnliche Größen ermittelt und analog als Ausgangspunkt verwendet werden.

Diese zwei Anpassungsschritte werden durch die nachfolgende Gleichung beschrieben

$$\text{NOAEC}_{\text{HEC}} = \text{NOAEC}_{\text{T}} \times \text{EZA} \times \text{DAF}$$

wobei

- $\text{NOAEC}_{\text{HEC}}$ = Expositionskonzentration (in mg/m^3), die zu einer äquivalenten Zielgewebskonzentration führt (humanäquivalente Konzentration)
- NOAEC_{T} = im Tierversuch ermittelte Ausgangskonzentration
- EZA = Expositionszeitanpassung bedeutet und
- DAF = Dosimetrieenanpassungsfaktor

Expositionszeitanpassung

Ein typisches Expositionsschema im Inhalationsterversuch ist z.B. eine Exposition über 6 h pro Tag und 5 Tage pro Woche. Eine Anpassung auf eine typische Arbeitsplatzexposition (8 h/d, 5 d/w) würde demnach durch folgende Gleichung erfolgen können:

$$EZA = \frac{C_H}{C_M} \times \frac{t_M}{t_H} = 0,75$$

Die Frage, ob die Gesamtdauer des Inhalationsexperiments geeignet ist, die zu beurteilende Gesamtexpositionsdauer des Menschen abzubilden, wird nicht anhand von EZA entschieden.

Die vorgestellte Berechnung von EZA geht vom Haberschen Gesetz der Äquivalenz von Konzentration und Expositionszeit aus ($C \times t = \text{konstant}$). Obwohl Stoffe und Wirkungen bekannt sind, bei denen die Expositionszeit stärkeres Gewicht hat, wird in erster Näherung die Annahme des Haberschen Gesetzes hier als praktikabel angesehen.

Dosimetrieangepassungsfaktor

Nach der von der EPA entwickelten Methodik (EPA, 1994; Jarabek et al., 2005) lässt sich der Dosimetrieangepassungsfaktor nach folgender Formel berechnen:

$$DAF = \frac{AMV_T}{AMV_H} \times \frac{DA_T}{DA_H} \times \frac{NF_H}{NF_T}$$

wobei

- AMV_T bzw. AMV_H = Atemminutenvolumen von Versuchstier und Mensch
- DF_T bzw. DF_H = Depositionsanteil (Anteil der inhalieren Partikelmenge, der in einer bestimmten Region des Atemtraktes deponiert wird) bei Versuchstier und Mensch
- NF_H bzw. NF_T = Normalisierungsfaktor bei Mensch und Tier (z.B. bei Normalisierung auf die Oberfläche des Zielortes: Verhältnis der Oberfläche der jeweiligen Zielregion des Atemtraktes beim Menschen zu der beim Versuchstier)

Die einzelnen Elemente des DAF werden nachfolgend detailliert besprochen. Die Depositionsanteile können durch Dosimetriemodelle (wie z.B. MPPD, siehe Kap. 5) ermittelt werden. Die verschiedenen Möglichkeiten der Normalisierung werden in Abschnitt 4.3erläutert.

Da die obigen Gleichungen von der Expositionskonzentration (in mg/m^3) als Masse gemessenen Stoffmenge ausgehen, basieren sie auf einer Angabe der Dosis („Dosismaß“) als Masse. Andere Dosismaße werden in Kap. 4.4 diskutiert. Soll z.B. das Dosismaß Anzahl Partikel zum Speziesvergleich herangezogen werden, muss eine Umrechnung von Masse in Anzahl erfolgen.

Die Gleichungen betrachten die deponierten Stoffmengen, beziehen jedoch die Clearance aus dem thorakalen Bereich nicht mit ein. Gerade in Bezug auf die Clearance sind jedoch erhebliche Speziesunterschiede erkennbar (siehe Abschnitt 4.6). Zu deren Berücksichtigung können die in der Lunge retinierten Mengen in die Betrachtung

einbezogen werden. Auch dies ist durch Modellbetrachtungen möglich (Abschnitt 5.3.4).

5.2 Beschreibung von MPPD- Grundlagen

Das „Multiple Path Particle Dosimetry model“ (MPPD) wurde gemeinsam von CIIT (jetzt Hamner Institute) und dem niederländischen RIVM (National Institute of Public Health and the Environment) entwickelt. Es ist eine frei verfügbares³ Programm, das auf lokalen Rechnern angewendet werden kann. Alle nachfolgenden Ausführungen beziehen sich auf die Version 2.1 (2009) des Modells.

Das Modell erlaubt Berechnungen zur lokalen Dosis von Stäuben im Atemtrakt

- bei Mensch und Ratte
- für mono- und polydisperse Stäube mit Durchmessern von 1 nm bis 100 µm (bei Partikeldurchmessern <100 nm wird ein spezielles Transport- und Verteilungsmodell für Nanopartikel angewendet);
- Modellaussagen sind sowohl zur deponierten als auch zur retinierten Dosis (unter Berücksichtigung der Clearance) möglich.

Nachfolgend werden wesentliche Eigenschaften und Eingangsparameter, die für den Kontext dieses Berichtes notwendig sind, diskutiert. Die Ausführungen stellen jedoch keine Anwendungsanleitung dar und ersetzen keine detaillierte Beschäftigung mit dem Programm und den Erläuterungen, die über die Hilfefunktion von MPPD abrufbar sind.

5.2.1 Struktur

Zur Modellentwicklung und zu den Grundlagen liegen mehrere Veröffentlichungen der Entwickler vor (Asgharian and Anjilvel, 1998; Asgharian et al., 2001; Asgharian and Price, 2006; 2007; Hofmann and Asgharian, 2003; Hofmann et al., 2000; Jarabek et al., 2005; Millage et al., 2010; Schroeter et al., 2006; Subramaniam et al., 2003). Anhand der Veröffentlichungen kann speziellen Fragen nachgegangen oder die in den Hilfefunktionen dargestellten Informationen vertieft werden.

MPPD bietet jeweils für den Menschen Lungenmodelle unterschiedlicher Komplexität zur Auswahl an. Die Modelle für den Menschen

- ein symmetrisches Modell für die gesamte Lunge („Yeh / Schum symmetric“)
- ein Modell, das die 5 Lungenlappen abbildet, jeden Lappen jedoch als symmetrische Einheit abbildet („Yeh / Schum 5-lobe“)
- ein asymmetrisches Modell des Tracheobronchialbereichs („Stochastic lung“)

³Zu beziehen entweder auf CD über die Bibliothek des RIVM (MPPD, version 1.0, Oktober 2002), <http://www.rivm.nl/bibliotheek/rapporten/650010030.html> oder als download bei <http://www.ara.com/products/mppd.htm>, Version 2.1, Applied Research Associates, Inc. ARA Copyright

beruhen alle auf den morphometrischen Daten von Yeh und Schum (1980). Außerdem stehen altersspezifische Modelle für dosimetrische Modellierungen bei Kindern zur Verfügung.

Mit der Komplexität der Modelle steigt die Auflösung (Aussagen pro Region, pro Lappen oder pro Atemwegsgeneration), jedoch auch die Rechenzeit. Die Hilfsmaterialien zum Modell bieten Erklärungen und Auswahlhilfen. Asgharian et al. (2001) fanden eine gute Übereinstimmung in der von den 3 Modellen vorhergesagten Deposition. Bezüglich der Retention unterscheiden sich die Arten der Ergebnisse (retinierte Masse pro Region) zwischen den Modellen nicht, jedoch können quantitative Unterschiede auftreten. Die Prüfung verschiedener Modelle ist deswegen ratsam.

Für die Ratte wird ein Multipfad-Modell auf Basis der morphometrischen Daten für Long-Evans-Ratten von Raabe et al. (1975) angeboten. Anpassungen für andere Rattenstämme können durch Änderungen der funktionellen Reservekapazität (FRC, „functional residual capacity“) vorgenommen werden (siehe MPPD Hilfsfunktionen).

Zur Berechnung der Clearance wurde beim Menschen auf ein Modell der ICRP, International Commission on Radiological Protection (1994) zurückgegriffen. Bei der Ratte wurden die kinetischen Parameter aus Experimenten von Bermudez et al. (2004) gewonnen.

Zahlreiche Parameter wie Lungengeometrie, Luftströmung und körperliche Aktivität beeinflussen die Inhalation und Deposition von Partikeln und wurden entsprechend von den Modellbauern untersucht. De Winter-Sorkino und Cassee (2002) untersuchten in einer Sensitivitätsanalyse einige der Einflussgrößen. Das Modell selbst sieht Standardwerte vor, die jedoch fallspezifisch modifiziert werden können.

Die Autoren des RIVM stellten einen starken Einfluss der körperlichen Aktivität auf die modellierten Depositionsraten fest. Die Unterschiede waren jedoch nicht für alle Partikelgrößen gleich stark ausgeprägt. Die funktionelle Residualkapazität hatte ebenfalls starken Einfluss auf die Deposition. Eine Erhöhung um 1300 ml hatte eine Erniedrigung der modellierten alveolären Deposition um 25% zur Folge.

Geringeren Einfluss hatten Variationen des Volumens des oberen Atemtraktes (Mund-Rachen-Nasenraum) oder der Partikeldichte. Unter Bedingungen einer obstruktiven Atemwegserkrankung (erhöhtes Atemzugvolumen, erhöhte Atemfrequenz) war die Deposition erhöht.

5.2.2 Ergebnisberichterstattung des Modells

Deposition

Berechnungen zur Deposition von Partikeln werden als „fraction“ berichtet, wobei fraction der Masseanteil in Prozent darstellt, der in einer spezifizierten Region des Inhalationstraktes deponiert wird. Nur im Falle von monodispersen Stäuben entspricht dies auch der relativen Partikelzahl.

Berichtet werden:

1. Total head deposition fraction
2. Deposition fraction in conducting airways

3. Deposition fraction in alveolar region
4. Airway deposition fraction (TB + Alv) (entspricht Summe 2. + 3.)
5. Total deposition fraction (entspricht Summe 1. + 2. + 3.)

Weiterhin werden für die Deposition zusätzlich folgende Angaben gemacht, die als alternative dosimetrische Angaben verwendet werden können (siehe Abschnitt 4.4):

- Mass Deposition per Alveolus (in μg)
- Mass Deposition per Macrophage (in μg)
- Number of Particles per Alveolus (dimensionslos)
- Number of Particles per Macrophage (dimensionslos)

Retention

Die Retention berücksichtigt ausgehend von der deponierten Masse die Elimination von Partikeln aus dem Inhalationstrakt und berechnet daraus die retinierte Masse. Es versteht sich, dass diese Angabe eine Integration über einen definierten Zeitraum darstellt und somit fest mit dem eingangs vorgegebenen Modellierungszeitraum verbunden ist.

Folgende Werte werden vom Modell berechnet:

- TB Retention (mg) (im tracheobronchialen Bereich retinierte Menge)
- Alv. Retention (mg) (im alveolären Bereich retinierte Menge)
- Lymph Mass (mg) (in Lymphknoten retinierte Menge).

Darüber hinaus werden auch die pro Tag aus dem tracheobronchialen bzw. alveolären Bereich entfernten Mengen angegeben.

Eine Normalisierung (z.B. auf die Oberfläche der betrachteten Region des Atemtraktes) wird vom Programm nicht vorgenommen.

5.3 Modellierung mit MPPD – Diskussion der Eingangsdaten

MPPD erfordert diverse Eingangsdaten, um Berechnungen der Deposition durchführen zu können. Dies betrifft u.a.

- die Modellauswahl (nur bei der Modellierung des Menschen)
- physiologische Parameter (funktionelle Residualkapazität, Volumen des oberen Atemtraktes)
- der Charakterisierung der Stäube (mono- oder polydispers, Partikelgröße und Partikelgrößenverteilung)
- Aktivitätsmuster und physikalische Aktivität
- Zeiträume zur Betrachtung der Clearance.

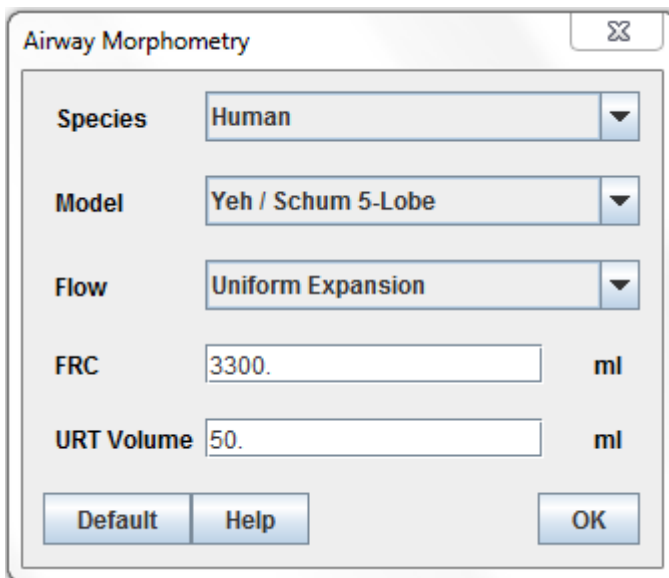
Nachfolgend werden die Haupteingabemasken des Modells vorgestellt und kritische Eingangsdaten diskutiert.

5.3.1 Atemwegsmorphologie (“Airway morphology”)

Die verschiedenen für den Menschen verfügbaren Modelle wurden unter Kap. 5.2.1 kurz diskutiert. Die Auswahl hängt von der Fragestellung (die Analyse regionaler Un-

terschiede bezüglich der Deposition erfordert komplexere Modelle) und des gewünschten Rechenaufwandes ab.

Das Modell verwendet die in der Abbildung 5-1 angegebenen Standardwerte für die funktionelle Residualkapazität (FRC) und das Volumen des oberen Atemtraktes (URT Volume) beim Menschen. Bei Modellierung spezifischer Bevölkerungsgruppen, die sich in FRC deutlich vom Durchschnitt unterscheidet, ist eine Skalierung anhand von Größe und Alter möglich (siehe Hilfefunktion in MPPD).



The image shows a software dialog box titled "Airway Morphometry". It contains the following fields and controls:

- Species:** A dropdown menu with "Human" selected.
- Model:** A dropdown menu with "Yeh / Schum 5-Lobe" selected.
- Flow:** A dropdown menu with "Uniform Expansion" selected.
- FRC:** A text input field containing "3300." followed by the unit "ml".
- URT Volume:** A text input field containing "50." followed by the unit "ml".
- Buttons:** "Default", "Help", and "OK" are located at the bottom of the dialog.

Abbildung 5-1: Eingabemaske Atemwegsmorphologie (hier: Humandaten)

Wir empfehlen die Beibehaltung der Standardeinstellungen bei Verwendung des Modells: „Yeh/Schum 5-Lobe“.

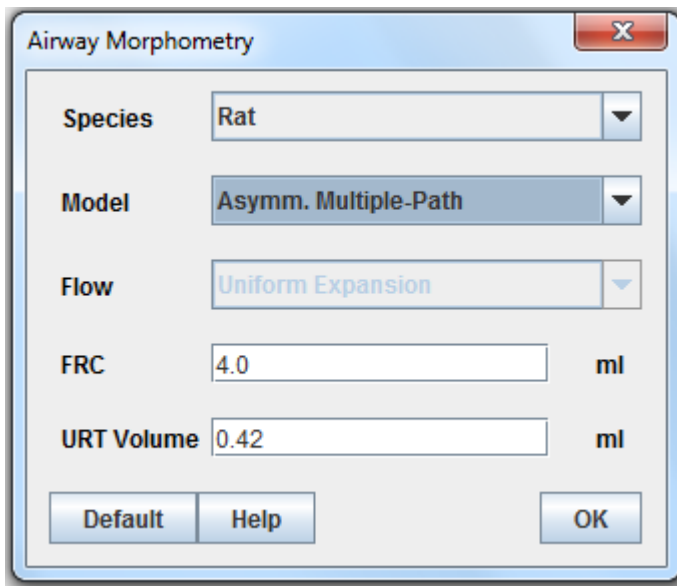


Abbildung 5-2: Eingabemaske Atemwegsmorphologie(hier: Rattendaten)

Bei der Ratte werden als Standardwerte für die FRC 4,0 ml und für URT Volume 0,42 ml verwendet. Diese Werte für Long-Evans-Ratten können ggf. für andere Stämme modifiziert werden (siehe Hilfefunktion in MPPD). Wir schlagen vor, mit der Standardeinstellung zu arbeiten.

5.3.2 Partikeleigenschaften (“Particle properties”)

Bezüglich der Partikeleigenschaften werden folgende Angaben verlangt:

- Dichte (in g/m^3)
- Durchmesser (in μm), wobei angegeben werden muss, ob es sich um den CMD (count median diameter), MMD (mass median diameter) oder den MMAD (mass median aerodynamic diameter) handelt.⁴
- GSD: Geometrische Standardabweichung des Partikeldurchmessers; $\text{GSD} < 1,05$: monodispers; $\text{GSD} \geq 1,05$: polydispers
- Nanoparticle model: anzuwenden bei Partikelgrößen $< 100 \text{ nm}$
- inhalability adjustment.

⁴ CMD: Median der Partikelzahl der Verteilung der Durchmesser: bei diesem Durchmesser liegen gleich viele Teilchen oberhalb und unterhalb dieses Durchmesser; MMD: Median der Massen: bei diesem Durchmesser liegt die halbe Masse in Partikeln mit einem größeren und die Hälfte in Partikeln mit kleinerem Durchmesser vor; MMAD: entspricht dem MMD vollkommen kugelförmiger Partikel mit den aerodynamischen Eigenschaften von Partikeln dieses MMAD.

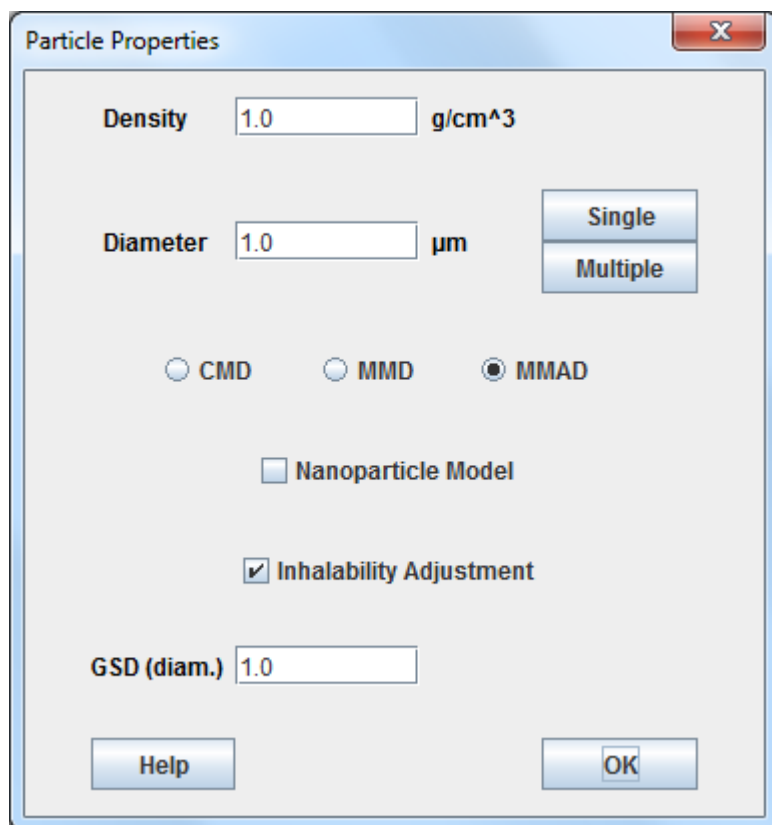


Abbildung 5-3: Eingabemaske Partikeleigenschaften

Es wird empfohlen, die in der Tierstudie genannten Parameter zu übernehmen und grundsätzlich die Inhalationsadjustierung heranzuziehen.

Inhalierbarkeit

Wegen der unterschiedlich großen extrathorakalen Atemwege werden große Partikel bei der Ratte im Vergleich zum Menschen leichter zurückgehalten und schlechter inhaliert. Zum Beispiel ist die Inhalierbarkeit von Partikeln der Größe 5 μm bei der Ratte nur etwa 65%, beim Menschen hingegen nahezu vollständig (EPA, 2009).

In MPPD wird dieser Unterschied in der Inhalierbarkeit durch Anklicken des Kästchens „Inhalability Adjustment“ aktiviert. Die Korrektur wird bei der Ratte bei Partikeln $>3 \mu\text{m}$ und beim Menschen $>8 \mu\text{m}$ wirksam; darunter wird vom Modell vollständige Inhalierbarkeit angenommen. Anklicken dieser Option führt zur Multiplikation der Expositionskonzentration mit einem Partikelgrößen- und Spezies-abhängigen Faktor zwischen 0 und 1 (basierend auf empirischen Daten). Die Anwendung insbesondere bei größeren Partikeln ist sinnvoll.

Dichte

Auch wenn die Berücksichtigung der Dichte keine massiven Veränderungen bewirkt, sollte bei der Deposition die Dichte einbezogen werden. Tabelle 5-1 zeigt die Auswirkungen in der Depositionsfraction.

Tabelle 5-1: Mit MPPD* für die Ratte berechnete Depositionsfractionen (prozentuale Masseanteile) unter Berücksichtigung unterschiedlicher Materialdichten (ET: extrathorakal, TB: tracheobronchial, AV: alveolär)

	Mensch	Ratte
Dichte 1 g/cm³		
ET	0,355	0,331
TB	0,037	0,020
AV	0,090	0,055
gesamte deponierte Fraktion	0,480	0,406
Dichte 4,3 g/cm³		
ET	0,354	0,333
TB	0,041	0,026
AV	0,110	0,073
gesamte deponierte Fraktion	0,506	0,432

*Staubcharakteristika: GSD = 1,6; Partikelgröße MMAD = 1,1 µm, Konzentration 5 mg/m³, mit Inhalierbarkeitsanpassung; Ratte: Standardannahmen, Mensch: leichte Aktivität

5.3.3 Expositionsszenario ("Exposure Scenario") (einschl. Konzentration und körperliche Aktivität)

Im Standardfall wird im bottom-down-Menü „Exposure condition“ „constant exposure“ gewählt.

In der Maske „Exposure Scenario“ sind dann die wesentlichen Eingabeparameter

- die Partikelkonzentration (in mg/m³)
- die physische Aktivität (charakterisiert durch Atemfrequenz und Atemminutenvolumen)
- sowie der Typ der Atmung (nasal, oral oder oro-nasal).

Exposure Scenario

Acceleration of Gravity: 981.0 cm/s²

Body Orientation: Upright

Body Orientation: α : 0.0 °

Body Orientation: β : 0.0 °

Body Orientation: γ : 0.0 °

Aerosol Concentration: 1. mg/m³

Breathing Frequency: 19.0 per minute

Tidal Volume: 1000.0 ml

Inspiratory Fraction: 0.5

Pause Fraction: 0.0

Breathing Scenario: Oronasal-Normal Augmenter

Default Help OK

Abbildung 5-4: Eingabemaske Expositionsszenario (hier Mensch, vorgeschlagene Standardwerte)

Physikalische Aktivität

Die nachfolgende Tabelle gibt typische Werte beim Menschen bei unterschiedlicher körperlicher Aktivität an (nach EPA, 2009).

Tabelle 5-2: Respiratorische Parameter des Menschen in Abhängigkeit von der körperlichen Aktivität nach EPA (2009)

Aktivität	Atemfrequenz (1/min)	Atemzugvolumen (L)	Atemminutenvolumen (L/min)	Atemvolumen pro 8h-Schicht (m ³ /8 h)
ruhend *	12	0,625	7,5	3,6
langsames Gehen	16	0,813	13	6,24
leichte Aktivität **	19	1,0	19	9,12
mittlere Aktivität	28	1,429	40	19,2
schwere Aktivität	26	1,923	50	24

*MPPD-Standardwerte;

** entspricht in etwa der Standardannahme von 10 m³/Schicht, wie sie in der Ableitung von AGW-Werten Anwendung findet.

Es wird bei der Eingabe der Daten zum Menschen empfohlen, eine leicht erhöhte Aktivität mit einem erhöhten Atemvolumen einzustellen. Außerdem sollte gemischte Nase-Mund-Atmung zu Grunde gelegt werden.

Bei der Ratte werden in MPPD als Standardannahmen eine Atemfrequenz von 102 pro Minute und ein Atemzugvolumen von 2,1 ml verwendet. Dies entspricht einem Atemvolumen pro Tag von 0,31 m³ (vgl. Abbildung 5-5). Dieser steht in guter Übereinstimmung mit üblichen Annahmen zum Atemvolumen von Ratten (EPA, 1986).

Parameter	Value	Unit
Acceleration of Gravity	981.0	cm/s ²
Body Orientation	Upright	
Body Orientation: α	0.0	°
Body Orientation: β	0.0	°
Body Orientation: γ	0.0	°
Aerosol Concentration	1.	mg/m ³
Breathing Frequency	102.	per minute
Tidal Volume	2.1	ml
Inspiratory Fraction	0.5	
Pause Fraction	0.	
Breathing Scenario	Nasal	

Abbildung 5-5: Eingabemaske Expositionsszenario (hier Ratte, Standardeinstellungen)

Art der Atmung

Ratten sind obligatorische Nasenatmer. Menschen atmen in Ruhe ebenfalls durch die Nase, schalten bei höherer Aktivität aber zu oronasalem Atmen (sogenannte „ornasal normal augmenters“. Die Grenze liegt bei gesunden Personen etwa bei einem Atemminutenvolumen von 35 L/min (dieser Wert wird auch in MPPD angewendet). Allerdings atmeten in einer Untersuchung 13% auch in Ruhe durch den Mund (EPA, 2009; Miller, 2000). Personen mit obstruktiven Lungenerkrankungen atmen verstärkt oronasal (EPA, 2009).

Bei leichter Aktivität besteht kein Unterschied zwischen den Einstellungen „nasal“ und oronasal – normal augmenters“. Bei höherer Aktivität (kein Default) sollte jedoch für den Menschen letztere Einstellung gewählt werden.

Wird für die Ratte ebenfalls eine Abweichung von den Standardwerten vorgenommen, kann es zu nicht plausiblen Ergebnissen kommen, wie Tabelle 5-3 zeigt.

Tabelle 5-3: Mit MPPD* für die Ratte berechnete Depositionsfractionen (prozentuale Masseanteile) unter Berücksichtigung unterschiedlicher Annahmen zu Atemfrequenz und Atemzugminutenvolumen (ET: extrathorakal, TB: tracheobronchial, AV: alveolär)

	StandardEinstellung **	schnelle, flache Atmung (doppelte Atemfrequenz, halbiertes Atemzugvolumen)
ET	0,218	0,226
TB	0,021	0,010
AV	0,058	0,010
gesamte deponierte Fraktion	0,297	0,247

*Staubcharakteristika Dichte 1 g/cm³, GSD = 1, Partikelgröße = 1 µm, Konzentration 0,5 mg/m³, Einstellungen: Modells für die Ratte; mit Inhalierbarkeitsanpassung

** Atemfrequenz 102 pro Minute, Atemzugvolumen 2,1 ml

5.3.4 Clearance („Clearance Settings“)

Wie in Abschnitt 4.6 erläutert, wird die Anwendung des folgenden Schrittes im Standardfall weder für die ERB-Ableitung noch für die AGW-Ableitung empfohlen.

Die Eingabemaske zur Clearance erlaubt

- eine Modifikation von Clearanceraten
- die Angabe von Expositionszeitmustern bei Ratte und Mensch.

Parameter	Value	Unit
Tracheal Mucous Velocity	1.9	mm/min
Fast Human Clearance Rate	0.02	1/days
Medium Human Clearance Rate	0.001	1/days
Slow Human Clearance Rate	0.0001	1/days
Lymph Node Human Clearance Rate	0.00002	1/days
Rat Clearance Rate	0.00105652	1/days
Exposure Time Settings:		
Number of Hours Per Day	6	
Number of Days Per Week	5	
Number of Weeks	1	
Max. Post-Exposure Days	0	

Abbildung 5-6: Eingabemaske Clearance

Kinetik der Clearance

Die verwendeten kinetischen Parameter beschreiben das Verhalten inerter, schwerlöslicher Partikel (PSP, „poorly soluble particles“) im Atemtrakt. Das Clearance-Modell für den Menschen wurde von ICRP (1994) übernommen. Das Modell geht von 3 Kompartimenten mit unterschiedlichen Clearanceraten aus („fast“, „medium“, „slow“, numerische Werte aus ICRP (1994), wie oben in Abbildung 5-6 angegeben). Nach dem ICRP-Modell werden aus den 3 Kompartimenten 30%, 60% und 10% der Partikel mit der entsprechenden Geschwindigkeit eliminiert.

Für das Clearance-Modell der Ratte wird als Quelle die experimentellen Daten von Bermudez et al. (2002) angegeben. Diese Autoren bestimmten in einem subchronischen Inhalationsversuch unter anderem die Clearance von Titandioxid-Stäuben bei Ratten. Bei Expositionskonzentrationen von 10, 50 oder 250 mg/m³ und Exposition über 6 h/d, 5 d/w über 13 Wochen ermittelten die Autoren Retentionshalbwertszeiten von 100, 324 und 838 Tagen, wobei bei den beiden oberen Konzentrationen die Lungenclearance der Tiere bereits beeinträchtigt waren. Die bei der niedrigsten Konzentration beobachtete Halbwertszeit von 100 Tagen ist länger, als für erwachsene Ratten anzunehmen wäre. US EPA (2004) vermutet deswegen, dass auch bei dieser Konzentration die Clearance schon etwas beeinträchtigt war.

Die Retentionshalbwertszeit von 100 Tagen für die niedrigste Konzentration entspricht allerdings nach $CI = \ln 2 / HWZ$ einem Wert von 0,0069, also nicht dem oben in

Abbildung 5-6 angegebenen Standardwert. Weitere Erläuterungen hierzu werden in der Hilfe zum Programm nicht gegeben.

Aus den Ausführungen zu MPPD in US EPA (2009) gehen weitere Einzelheiten zum Ratten-Clearance-Modell hervor, wie es in MPPD implementiert wurde: Basierend auf den Daten von Bermudez et al. (2002) wird angenommen, dass die Clearance kontinuierlich mit steigender Lungenbelastung abnimmt, dass also keine spezifische Schwelle für ein „overload“ existiert. Die beladungsabhängige Clearance wird nach US EPA (2004) im MPPD-Modell mit der Gleichung

$$Cl = [0.03341 \times \exp(-1,7759 m_A^{0.3123}) + 0,00072] \text{ day}^{-1}$$

berechnet. Mit dieser Gleichung resultiert bei einer Lunge ohne Beladung eine Clearance mit einer Halbwertszeit von 20 d. Eine typische Halbwertszeit von 70 Tagen für eine erwachsene Ratte ohne Beeinträchtigung der Clearance wird bei einer Lungenbelastung von 0,4 mg erreicht.

Die oben in Abbildung 5-6 angegebene Standard-Clearance-Rate bei der Ratte von 0,001 pro Tag stellt nach US EPA (2004) die angenommene Clearance-Rate von den Alveoli zum lymphatischen System dar und nicht die gesamte alveolare Clearance. Die Makrophagen-vermittelte Clearance in Richtung Tracheobronchialbereich ist in der Eingabemaske nicht dargestellt.

Damit nimmt das MPPD-Modell bei der Ratte mit steigender Lungenbelastung eine kontinuierliche Abnahme der Clearance an, während beim Menschen von keinerlei Beeinträchtigung der Clearance ausgegangen wird.

Trotz der (nicht konservativen) Annahme einer Beeinträchtigung der Clearance bei der Ratte schon bei niedrigen Beladungen resultieren aus der mit dem MPPD-Modell berechneten Retention teilweise große Speziesunterschiede. Diese Unterschiede sind nicht konstant und expositions- bzw. beladungsabhängig, liegen jedoch häufig bei höherer Empfindlichkeit des Menschen von mehr als einer Größenordnung.

Angesichts der fehlenden Modellvalidierung an anderen experimentellen Datensätzen halten wir das Clearance- und Retentionsmodell des MPPD-Modells derzeit noch nicht für einsetzbar.

In Abschnitt 4.6.2.2 wird ein alternativer Vorschlag unterbreitet, wie die Unterschiede zwischen Tier und Mensch bezüglich der Clearance von schwerlöslichen Stäuben berücksichtigt werden kann.

Expositionszeitmuster

Die Standardannahmen in MPPD sehen bei Mensch und Ratte eine Exposition über 6 h pro Tag an 5 Tagen pro Woche vor. Sowohl die Dauer der Exposition („Number of Weeks“) als auch die Dauer der anschließenden Nachexpositionszeit („Max. Postexposure Days“) können angegeben werden.

Aus dem Tierversuch sollten die spezifischen Expositionsbedingungen bekannt sein und können für die Modellierung eingesetzt werden (typischerweise Exposition an 6 h pro Tag, 5 d/w, über Zeiträume bis zu 2 Jahren).

Für den Menschen können im Standardfall die typischen Bedingungen am Arbeitsplatz zugrunde gelegt werden: Exposition über 8 h/d an 5 d/w.

Es ist zu beachten, dass der Zeitraum bis zur Einstellung von Gleichgewichtszuständen, d.h. bis zum Erreichen konstanter Werte für die im Alveolarbereich retinierter Massen (pro Zeiteinheit deponierte Masse = pro Zeiteinheit durch Clearance entfernte Masse) für Ratte und Mensch unterschiedlich sind (siehe Kap. 4.6.2). Entsprechend sind für den Speziesvergleich bei chronischer Belastung die Gesamtexpositionszeiträume anzugeben (bei der Ratte im typischen chronischen Inhalationsversuch: 2 Jahre: „Number of Weeks“ = 104; beim Menschen bei angenommener Lebensarbeitszeit 40 Jahre: „Number of Weeks“ = 2080).

Da die Retention und somit die Expositionsdauer / Tag im Standardverfahren nicht nach dem MPPD-Modell berechnet werden, muss dieser Faktor, der den Speziesvergleich beeinflusst, außerhalb des Modells berücksichtigt werden.

5.3.5 Outputpräsentation

Im Rahmen des MPPD-Modells können die Ergebnisse als knappes oder differenziertes Protokoll ausgedruckt werden und z.B. die deponierte Dosis jeweils in graphischer Darstellung (einschließlich Differenzierungen auf die Lungenlappen) dargestellt werden. Abbildung 5-7 und Abbildung 5-8 geben ein Beispiel für die generierten Säulendiagramme.

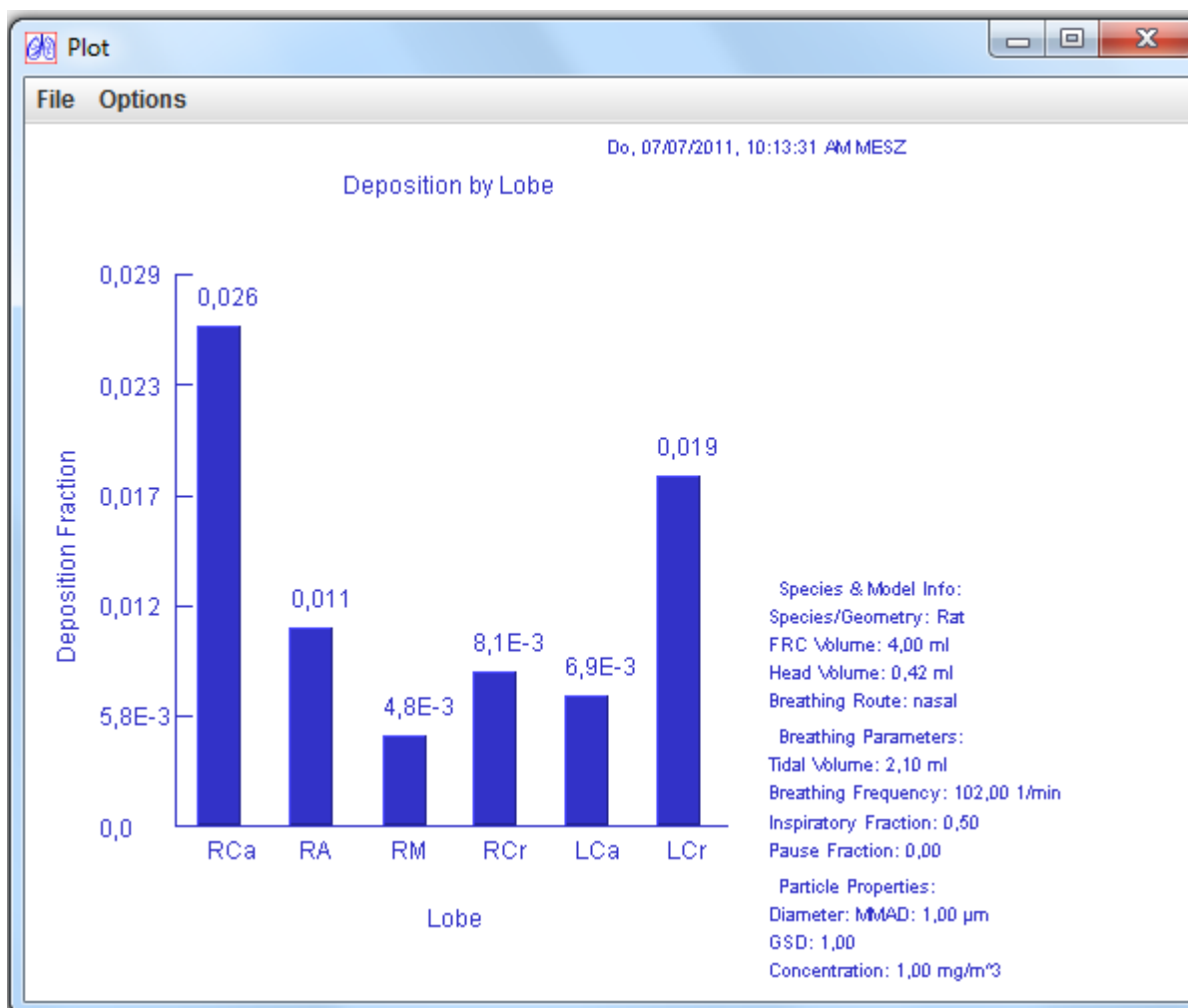


Abbildung 5-7: Ausdruck Säulendiagramm: Deponierte Dosis (Ratte), Beispiel

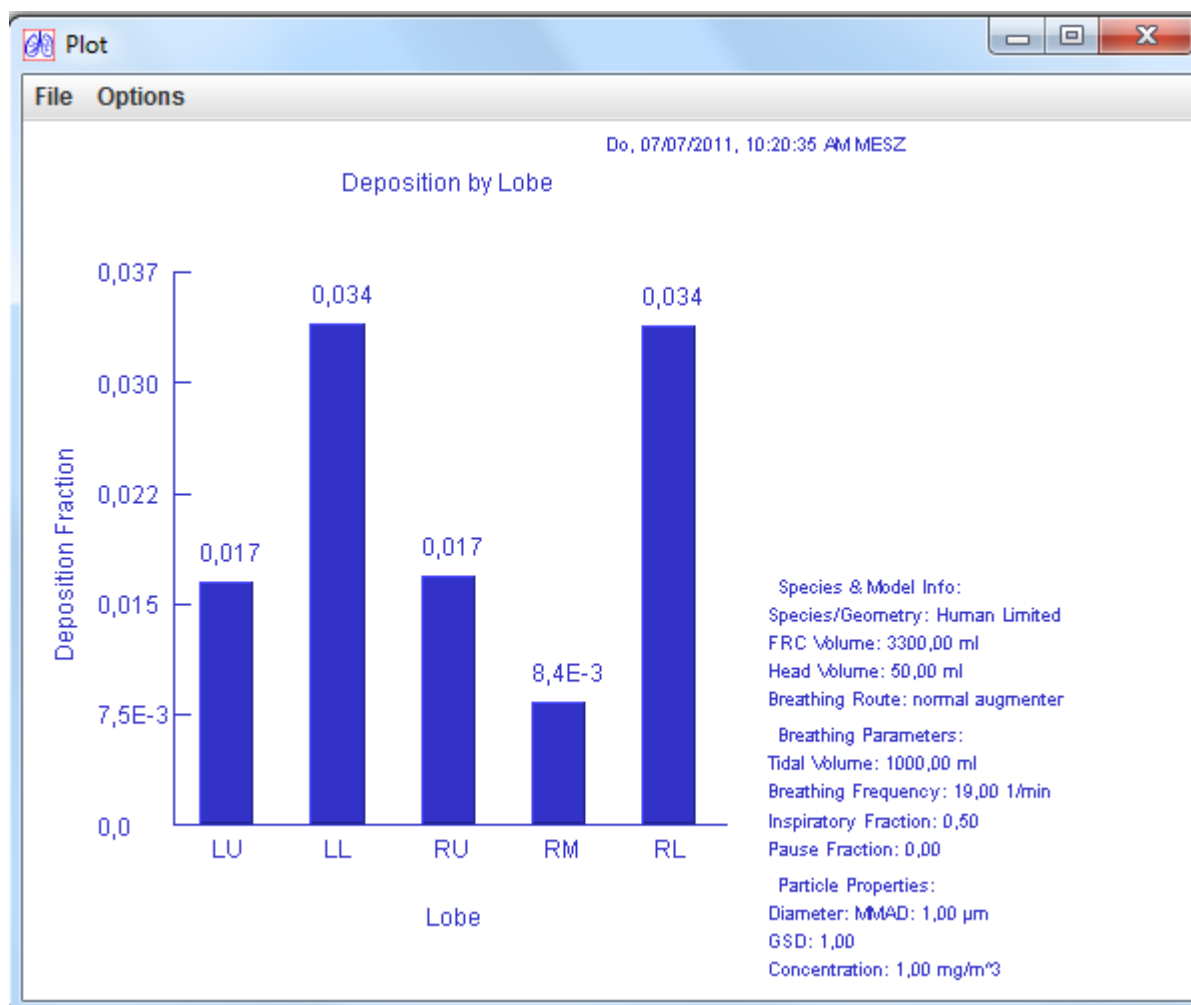


Abbildung 5-8: Ausdruck Säulendiagramm: Deponierte Dosis (Mensch), Beispiel

Der Vergleich der beiden Abbildungen zeigt auch die unterschiedliche Deposition im Speziesvergleich bei sonst gleichen Eingangsparametern (vgl. Abschnitt 4.3.1.1).

Wenn auch kein anderes Modell in vergleichbar anwenderfreundlichen Form öffentlich zugänglich ist wie MPPD, existieren doch Modelle, die vergleichend herangezogen werden können, um die Plausibilität von MPPD zu prüfen.

Ausgehend von Daten zu Kohlestaub-exponierten Minenarbeitern entwickelten Kuempel et al. (2001) ein Dosimetriemodell für den Menschen, das für einen Plausibilitätsvergleich herangezogen werden kann. Ein von der International Commission on Radiological Protection entwickeltes Dosimetriemodell wird von der US EPA seit längerem für die Bewertung von Stäuben eingesetzt (EPA, 1996; EPA, 2009). Ein erster Vergleich mit der RfC-Methodik von EPA (1994) wurde bereits in Kalberlah et al. (1999) geführt. In EPA (2009) sind auch vergleichende Betrachtungen zwischen ICRP-Modell und MPPD enthalten, deren Analyse hilfreich sein kann für die generelle Einschätzung der Modellvalidität.

6 Handlungsanweisung

Die Erkenntnisse aus den Abschnitten 4 und 5 sollen in eine knappe, aber transparente methodische Anleitung münden, wie dosimetrische Überlegungen bei der Inter-speziesextrapolation im Rahmen der Ableitung von Expositionrisikobeziehungen (ERB) oder Arbeitsplatzgrenzwerten (AGW) eingesetzt werden können. Diese Zusammenfassung kann, entsprechende Zustimmung der Fachgremien vorausgesetzt, in den Leitfaden zur Ableitung von Expositions-Risikobeziehungen sowie den Leitfaden zur Ableitung von Arbeitsplatzgrenzwerten eingegliedert werden.

Die Handlungsanweisung enthält keine Anleitung zur Verwendung des MPPD-Programmes.

Die Ausführungen haben gezeigt, dass die Grundhypothese des Speziesvergleichs: „Gleiche Dosis führt in zwei Spezies zu gleicher Wirkung“ nur größenordnungsmäßig bestätigt werden kann. Zahlreiche Faktoren erschweren auch den Einsatz von Dosi-metriemodellen für relative Aussagen im Speziesvergleich und führen dazu, dass berechnete Ergebnisse meist als scheinbar genau zu bewerten sind. Auf diesem Hintergrund ist vorgesehen, das HEC-Konzept im Regelfall konservativ und pauschal zu berücksichtigen, ohne eine mechanistisch korrekte Interpretation zu postulieren, wenn diese nicht im Einzelfall (jenseits des Defaultansatzes) mit qualifizierten Daten untermauert werden kann. Beim vorgeschlagenen Standardverfahren wird bewusst toleriert, dass mechanistisch möglicherweise nicht optimal begründbare Annahmen herangezogen werden, die ihre Berechtigung überwiegend wegen ihrem konservativen Charakter haben und die die grundsätzliche Unsicherheit bei dem Interspeziesvergleich reflektieren.

Es handelt sich jeweils um Vorgehensweisen im Standardfall (Default). Im Falle qualifizierterer Information kann begründet vom Default abgewichen werden.

6.1 Handlungsanleitung für den Leitfaden für kanzerogene Stoffe (ERB)

Der folgende Abschnitt kann als Abschnitt 4.6 in den Leitfaden (ERB) (AGS, 2008) ergänzt werden:

4.6 Interspeziesextrapolation bei lokal wirkenden Partikeln und Aerosolen

- (1) Bei Partikeln oder Aerosolen wird die abgeschätzte humanäquivalente Konzentration (HEC) auf Basis der Daten des Tierexperiments berechnet. Der Kehrwert des Faktors HEC/C_T entspricht dem Interspeziesfaktor und C_T ist die Konzentration im Tierexperiment, für die eine entsprechende Transformation gewünscht wird. Allgemein wird HEC/C_T über die Formel berechnet:

$$HEC/C_T = AgV_T / AgV_H \times ELR_H/ELR_T \times NF_H/NF_T \times DF_T/DF_H$$

wobei:

AgV gewichtetes tägliches Atemvolumen

ELR	durchschnittliche Eliminationsrate (abhängig von Clearancerate)
NF	Normalisierungsfaktor (Bezugsgewebe)
DF	Depositionsfraction (Prozent/100)
T	Tier (Ratte)
H	Mensch

- (2) AgV_T/AgV_H erhält im Standardfall den Wert: 0,008. Die Berücksichtigung der unterschiedlichen Expositionsdauer/Tag nach Abschnitt 4.2 entfällt, da im Faktor AgV_T/AgV_H bereits die unterschiedlichen Atemminutenvolumen und die unterschiedlichen Expositionszeiten (8h bei m Menschen; 6h bei der Ratte im Standardfalle) berücksichtigt sind.**

Für die Berechnung wurde eine Expositionsdauer von 6h/d (Ratte) und 8h/d (Mensch) zugrunde gelegt und ein Atemvolumen von 0,077 m³/d (Ratte) bzw. 10 m³/d (Mensch). Bei der Ratte wurde der gemittelte Wert über den Faktor 5/7 (Wochenexpositionstage) korrigiert, beim Menschen über den Wert 240/365d/Jahr ((Hartwig, 2011). Es ergeben sich $AgV_H = 6,57$ m³/d (Mensch) und $AgV_T = 0,055$ m³/d. Es folgt $AgV_T/AgV_H = 0,00837$ (gerundet auf 0,008). Es wird vorgeschlagen, in der Regel keine differenziertere Korrektur dieses Faktors (etwa um rattenstammspezifische Daten) vorzunehmen.

- (3) Das Verhältnis der Normalisierungsfaktoren wird im Standardfall mit $NF_H/NF_T = 150$ festgelegt. Damit erfolgt eine Normalisierung der deponierten Dosis auf die Oberfläche des Respirationstrakts (Alveolar- plus Tracheobronchialbereich), falls nicht im Einzelfall bessere Normalisierungsmaße begründet herangezogen werden können.**

Für die Berechnung wurden für die Ratte Oberflächenmaße von 4090 cm² (Alveolarbereich) und 35 cm² (Tracheobronchialbereich) und für den Menschen 627000 cm² (Alveolarbereich) bzw. 3200 cm² (Tracheobronchialbereich) herangezogen ((Oberdörster, 2010) und der resultierende Wert gerundet. Wegen der ungenauen Zuordnung der Wirkung zu (nur) Alveolarbereich oder (nur) Tracheobronchialbereich erscheint die (quantitativ wenig relevante) Gesamtfläche ein gutes Maß für die Charakterisierung der Speziesverhältnisse. Dies bedeutet sich, dass nicht andere Normalisierungsmaße (z.B. regionale Oberflächen von Teilbereichen der Lunge, Makrophagenanzahl, Makrophagenvolumen, oder Lungengewicht) im Einzelfall bessere Normalisierungsmaße darstellen können. Diese anderen Normalisierungsmaße würden jedoch meist zu einer Interspeziesdifferenz in ähnlicher Größenordnung führen und die Auswahl der Normalisierungsmaße wird durch die häufige Relevanz mehrerer paralleler Mechanismen ohnehin unpräzise. Differenzierungen nach Rattenstämmen sind in der Regel im Rahmen der Gesamtgenauigkeit nicht erforderlich.

(4) Das Verhältnis der Depositionsfractionen (DF_T/DF_H) sollte jeweils mittels einer Modellierung mit dem Multiple-Path Particle Dosimetry Model (MPPD, her: Stand: 2011, Version 2.1) berechnet werden. Die Ergebnisse hängen von der Partikelgrößenverteilung ab.

- **Es sollten die Standardeinstellungen im MPPD-Modell zur Ratte und beim Menschen übernommen werden, beim Menschen jedoch mit der Charakterisierung „leichte Aktivität“ sowie gemischte Mund- und Nasenatmung**

Eine nähere Beschreibung der Vorgehensweise findet sich in der Hilfefunktion der frei verfügbaren Modellierungssoftware (MPPD, 2011). Es ist wiederum vorgesehen, in der Regel nicht von den Standardeinstellungen abzuweichen, da die Modellvalidierung bei einigen Änderungen nicht abgesichert ist, da für die ERB-Berechnungen nur eine grobe Orientierung an der Vielzahl differenzierter Übertragungsmöglichkeiten gerechtfertigt ist, da z.B. andere Dosismaße bei mehreren parallel wirkenden Mechanismen nicht eindeutig alleine eine verbesserte Berechnung der Depositionsfaktion ergeben und da andere Dosismaße (z.B. Partikelanzahl) nicht notwendigerweise zu anderen und besser abgesicherten Interspeziesverhältnissen führen.

- **Die deponierten Fraktionen im Tracheobronchial- und Alveolar-Bereich (gesamt) können aus dem Protokoll der Berechnung (MPPD) abgelesen und ins Verhältnis gesetzt werden (DF_T/DF_H).**
- **Dabei wird als Dosismaß die Partikelmasse unter Berücksichtigung der Dichte aus dem Tierexperiment eingesetzt. Partikelgrößenverteilung und Dosismaß werden auch für den Menschen übernommen.**

Die Auswahl verschiedener Partikelgrößenverteilungen bei Tier und Mensch wird im Rahmen einer ERB-Ableitung nicht vorgesehen, da andere Situationen an verschiedenen Arbeitsplätzen möglich erscheinen und da die beste verfügbare Information zu Effekten in Bezug auf definierte Partikelgrößenverteilungen aus dem Tierexperiment herangezogen werden sollen.

(5) Das Verhältnis der Eliminationsraten ELR_H/ELR_T für schwer lösliche Stäube (Wasserlöslichkeit bei 20°C < 100 mg/L) wird mit dem Faktor 0,15 erfasst. Bei Partikeln mit mittlerer Löslichkeit (Wasserlöslichkeit bei 20°C im Bereich 100 mg/L- 10g/L) verdoppelt sich dieser Faktor auf 0,3, bei noch höherer Löslichkeit (>10g/L) wird das Verhältnis der Eliminationsraten nicht berücksichtigt ($ELR_H/ELR_T = 1$)

Der Faktor bei schwer löslichen Substanzen ergibt sich aus der Eliminationshalbwertszeit bei granulären biobeständigen Stäuben (GBS) im Alveo-

larbereich mit 60d (Ratte) bzw. 400d (Mensch). Es wird eine Eliminationsrate (= $\ln 2$ / Eliminationshalbwertszeit) von 0,0116/d (Ratte) und 0,00173/d (Mensch) berechnet (Hartwig, 2011). Diese Berechnungsmethode enthält erhebliche Ungenauigkeiten, insbesondere bei nicht GBS, kann jedoch als konservativer orientierender Maßstab herangezogen werden und scheint besser geeignet zu sein als eine abweichende Berechnung über MPPD.

Bei besser löslichen Stäuben ist neben der mechanischen Clearance mit einer Clearance über Löslichkeit (z.B. mit Endozytose) zu rechnen. Allerdings gibt es auch Anhaltspunkte für eine längere Retention von löslichen Partikeln im Alveolarbereich (z.B. über Proteinbindung). Sofern eine entsprechende Makrophagenclearance erfolgt, kann dies teilweise zu Speziesdifferenzen führen. Aus diesem Grunde wird der Einfluss der unterschiedlichen Eliminationsraten bei höherer Löslichkeit mit geringerem Gewicht (0,3 statt 0,15) berücksichtigt. Bei sehr starker Löslichkeit wird im Standardfall kein Einfluss der unterschiedlichen Eliminationsraten berücksichtigt.

Aus den oben genannten Faktoren wird also ein Faktor HEC/C_T berechnet mit: $HEC/C_T = AgV_T / AgV_H \times NF_H / NF_T \times ELR_H / ELR_T \times (DF_T / DF_H)$ oder $HEC/C_T = 0,008 \times 150 \times 0,15 \times (DF_T / DF_H) = 0,18 \times (DF_T / DF_H)$ für schwer lösliche Stäube, mit $0,008 \times 150 \times 0,3 \times (DF_T / DF_H) = 0,36 \times (DF_T / DF_H)$ für mittellösliche Stäube und mit $0,008 \times 150 \times (DF_T / DF_H) = 1,2 \times (DF_T / DF_H)$ für sehr gut lösliche Stäube.

- (6) Liegt der berechnete Wert HEC/C_T bei einem Wert > 1 , so ist in der Regel der Wert $HEC/C_T = 1$ anzunehmen, wenn nicht durch zusätzliche experimentelle Daten oder sonstige Evidenz begründet werden kann, dass bei dieser Substanz der Mensch tatsächlich gegenüber einer kleineren Dosis exponiert ist als das Versuchstier, wobei zu dokumentieren ist, dass diese Dosis mit (ggfls. abweichend) gewähltem Dosismaß und (ggfls. abweichend) gewählter Normalisierung für die Interpretation des Befundes angemessen geeignet ist.**
- (7) Die Anwendung des Interspeziesfaktors HEC/C_T hat keine Auswirkungen auf die Höhe des Speziesfaktors (Intraspeziesvariabilität und Interspeziesvariabilität), der jedoch nur bei nichtkanzerogenen Effekten berücksichtigt wird.**
- (8) Das Dosimetriemodell und die Berechnung HEC/C_T ist in folgenden Fällen im Standard nicht anwendbar:**
- **tierexperimentelle Daten basieren nicht auf Rattenstudien (sondern z.B. auf Mäuse- oder Hundestudien).**

In diesem Fall kann erwogen werden, einen durchschnittlichen pauschalen Faktor für die zu erwartende höhere Belastung des Menschen zu berücksichtigen (z.B. $HEC/C_T = 0,5$)

- **Es sind deutliche Overloadeffekte für die beobachteten Effekte maßgeblich.**

In diesem Fall kann zwar der Interspeziesfaktor wie ohne Overload verwendet werden, wenn die Effekte teilweise auf die spezifische Toxizität der Substanz zurückgeführt werden. Der resultierende Wert enthält jedoch zusätzliche Unsicherheiten. Bei reinen Partikeleffekten (vgl. GBS) sollte keine ERB-Modellierung mit dem MPPD-Modell im Overload-Bereich herangezogen werden.

- **Wenn beobachtete Effekte eindeutig nicht mit der deponierten oder retinierten Dosis korrelieren.**

Wenn zum Beispiel Effekte durch Partikel eindeutig nur im tracheobronchialen Bereich der Versuchstiere auftreten und nicht im Alveolarbereich, obwohl relevante oder gar hohe Deposition auch im Alveolarbereich stattfindet, dann ist die hier gewählte Standardnormalisierung und die gewählte Depositionsfraktion im gesamten unteren Respirationstrakt unangemessen.

- **Formale Berechnungen mit der Modellierung führen zu einem Gesamtfaktor HEC/C_T unter 0,05 (Faktor 20).**

Das vorgesehene Abbruchkriterium ist nicht gut durch Daten gestützt. Es konnte jedoch gezeigt werden, dass die einzelnen Annahmen im dosimetrischen Modell, insbesondere in der Normalisierung und im Dosismaß mit erheblichen Unsicherheiten verknüpft sind. Vor diesem Hintergrund wurde eine vorsichtige Herangehensweise gewählt, die sich deutlich anlehnt an a) bestehender Extrapolationspraxis bei schwer löslichen Partikeln, b) an der übergreifenden Erkenntnis, dass Tier und Mensch auch bei krebserzeugender Wirkung vermutlich etwa gleich empfindlich sind, auch wenn toxikokinetische Differenzen berücksichtigt sind. Insofern kann eine sehr große Differenz im Interspeziesvergleich nicht durch ein formales Verfahren begründet werden ohne sehr qualifizierte stoffspezifische Daten.

6.2 Integration des HEC-Konzepts in das AGW-Konzept

Es gelten die gleichen Defaultannahmen wie für krebserzeugende Wirkung. Es ist jedoch zu erwarten, dass Abweichungen vom Default eher begründet zu vertreten sind, z.B. können Wirkungen leichter nur dem AV- oder nur dem TB-Bereich allein zugeordnet werden (besser begründete Abweichung in der Normalisierung) oder es kann klarer unterscheidbar sein, ob die deponierte oder die retinierte Konzentration wirksam ist (z.B. wird bei Effekten durch lösliche Substanzen, die bereits bei akuter Exposition wirksam sind, die deponierte Dosis statt der retinierten begründet anwendbar sein).

7 Literatur

AGS, Ausschuss für Gefahrstoffe (2008)

Risikowerte und Exposition-Risiko-Beziehungen für Tätigkeiten mit krebserzeugenden Gefahrstoffen. Bekanntmachung 910

<http://www.baua.de/de/Themen-von-A-Z/Gefahrstoffe/TRGS/Bekanntmachung-910.html>

Anjilvel, S.; Asgharian, B. (1995)

A multiple-path model of particle deposition in the rat lung

Fundamental and Applied Toxicology, 28, 41-50

Asgharian, B.; Anjilvel, S. (1998)

A multiple-path model of fiber deposition in the rat lung

Toxicological Sciences, 44, 80-86

Asgharian, B.; Hofmann, W.; Bergmann, R. (2001)

Particle deposition in a multiple-path model of the human lung

Aerosol Science and Technology, 34, 332-339

Asgharian, B.; Price, O.T. (2006)

Airflow distribution in the human lung and its influence on particle deposition

Inhalation Toxicology, 18, 795-801

Asgharian, B.; Price, O.T. (2007)

Deposition of ultrafine (nano) particles in the human lung

Inhalation Toxicology, 19, 1045-1054

ATSDR, Agency for Toxic Substances and Disease Registry (2003)

Toxicological Profile for Nickel. Draft for Public Comment (Update)

U.S. Department of Health and Human Services Public Health Service

Beelte, A.-K. (2007)

Das Bronchialkarzinom in Schleswig-Holstein von 1999-2003. Inauguraldissertation zur Erlangung der Doktorwürde der Universität zu Lübeck, aus der Medizinischen Fakultät

Bermudez, E.; Mangum, J.B.; Asgharian, B.; Wong, B.A.; Reverdy, E.E.; Janszen, D.B.; Hext, P.M.; Warheit, D.B.; Everitt, J.I. (2002)

Long-term pulmonary responses of three laboratory rodent species to subchronic inhalation of pigmentary titanium dioxide particles

Toxicological Sciences, 70, 86-97

Bermudez, E.; Mangum, J.B.; Wong, B.A.; Asgharian, B.; Hext, P.M.; Warheit, D.B.; Everitt, J.I. (2004)

Pulmonary responses of mice, rats, and hamsters to subchronic inhalation of ultrafine titanium dioxide particles

Toxicological Sciences, 77, 347-357

Borm, P.J.A.; Schins, R.P.F.; Albrecht, C. (2004)

Inhaled particles and lung cancer. Part B: Paradigms and risk assessment

International Journal of Cancer, 110, 3-14

Brody, A.R.; Roe, M.W. (1983)

Deposition pattern of inorganic particles at the alveolar level in the lungs of rats and mice

American Review of Respiratory Disease, 128, 724-729

Brown, J.S.; Wilson, W.E.; Grant, L.D. (2005)

Dosimetric comparisons of particle deposition and retention in rats and humans

Inhalation Toxicology, 17, 355-385

Caulin, A.F.; Maley, C.C. (2011)

Peto's Paradox: evolution's prescription for cancer prevention

Trends in Ecology & Evolution, 26, 175-182

Charloux, A.; Quoix, E.; Wolkove, N.; Small, D.; Pauli, G.; Kreisman, H. (1997)

The increasing incidence of lung adenocarcinoma: reality or artefact? A review of the epidemiology of lung adenocarcinoma

International Journal of Epidemiology, 26, 14-23

Dankovic, D.; Kuempel, E.; Wheeler, M. (2007)

An approach to risk assessment for TiO₂

Inhalation Toxicology, 19, Suppl 1, 205-212

de Seranno, S.; Meuwissen, R. (2010)

Progress and applications of mouse models for human lung cancer
European Respiratory Journal, 35, 426-443

de Winter-Sorkina, R.; Cassee, F.R. (2002)

From concentration to dose: factors influencing airborne particulate matter deposition in humans and rats. RIVM report 650010031/2002
RIVM, Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu, Bilthoven, Netherlands

Devesa, S.S.; Bray, F.; Vizcaino, A.P.; Parkin, D.M. (2005)

International lung cancer trends by histologic type: male:female differences diminishing and adenocarcinoma rates rising
International Journal of Cancer, 117, 294-299

Donaldson, K.; Borm, P.J.; Oberdörster, G.; Pinkerton, K.E.; Stone, V.; Tran, C.L. (2008)

Concordance between *in vitro* and *in vivo* dosimetry in the proinflammatory effects of low-toxicity, low-solubility particles: the key role of the proximal alveolar region
Inhalation Toxicology, 20, 53-62

EPA, Environmental Protection Agency (1986)

Reference Values for Risk Assessment
U.S. Environmental Protection Agency Cincinnati OH

EPA, Environmental Protection Agency (1994)

Methods for Derivation of Inhalation Reference Concentrations and Application of Inhalation Dosimetry
U.S. Environmental Protection Agency, Research Triangle Park NC. Office of Health and Environmental Assessment

EPA, Environmental Protection Agency (1996)

Air Quality Criteria for Particulate Matter. Vol. I-III
U.S. Environmental Protection Agency Research Triangle Park NC

EPA, Environmental Protection Agency (2004)

Air Quality Criteria for Particulate Matter. Vol. II of II. EPA/600/P-99/002bF
U.S. Environmental Protection Agency, Research Triangle Park, NC

- EPA, Environmental Protection Agency (2009)
Integrated Science Assessment for Particulate Matter. EPA/600/R-08/139F
U.S. Environmental Protection Agency, Research Triangle Park, NC
- Geiser, M. (2010)
Update on macrophage clearance of inhaled micro-and nanoparticles
Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery, 23, 207-217
- Goodman, J.E.; Prueitt, R.L.; Thakali, S.; Oller, A.R. (2011)
The nickel ion bioavailability model of the carcinogenic potential of nickel-containing substances in the lung
Critical Reviews in Toxicology, 41, 142-174
- Green, F.H. (2000)
Pulmonary responses to inhaled poorly soluble particulate in the human
Inhalation Toxicology, 12, 59-95
- Hartwig, A. (2011)
Allgemeiner Staubgrenzwert (A-Fraktion), (Granuläre biobeständige Stäube (GBS))
Unveröffentlichter Entwurf für: *Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründungen von MAK-Werten*
- Hoenerhoff, M.J.; Hong, H.H.; Ton, T.V.; Lahousse, S.A.; Sills, R.C. (2009)
A review of the molecular mechanisms of chemically induced neoplasia in rat and mouse models in National Toxicology Program bioassays and their relevance to human cancer
Toxicologic Pathology, 37, 835-848
- Hofmann, W.; Asgharian, B. (2003)
The effect of lung structure on mucociliary clearance and particle retention in human and rat lungs
Toxicological Sciences, 73, 448-456
- Hofmann, W.; Asgharian, B.; Bergmann, R.; Anjilvel, S.; Miller, F.J. (2000)
The effect of heterogeneity of lung structure on particle deposition in the rat lung
Toxicological Sciences, 53, 430-437
- Hsieh, T.H.; Yu, C.P.; Oberdörster, G. (1999a)
A dosimetry model of nickel compounds in the rat lung
Inhalation Toxicology, 11, 229-248

Hsieh, T.H.; Yu, C.P.; Oberdörster, G. (1999b)
Modeling of deposition and clearance of inhaled Ni compounds in the human lung
Regulatory Toxicology and Pharmacology, 30, 18-28

Husain, A.N.; Kumar, V. (2005)
The lung
In: Robbins, S.; Cotran, R.; Kumar, V.; Abbas, A.K.; Fausto, N., Pathologic Basis of Disease, 7. Aufl. Elsevier Saunders, Philadelphia, 757-764, zitiert nach Beelte, 2007

ICRP, International Commission on Radiological Protection (1994)
Human Respiratory Tract Model for Radiological Protection. ICRP Publication 66
Pergamon Press

ILSI, Risk Science Institute Workshop Participants (2000)
The relevance of the rat lung response to particle overload for human risk assessment: A workshop concensus report
Inhalation Toxicology, 12, 1-18

Jarabek, A.M. (1994)
Inhalation RfC methodology: dosimetric adjustments and dose-response estimation of noncancer toxicity in the upper respiratory tract
Inhalation Toxicology, 6, Suppl., 301-325

Jarabek, A.M.; Asgharian, B.; Miller, F.J. (2005)
Dosimetric adjustments for interspecies extrapolation of inhaled poorly soluble particles (PSP)
Inhalation Toxicology, 17, 317-334

Kalberlah, F.; Schneider, K. (1998)
Quantifizierung von Extrapolationsfaktoren. Endbericht des Forschungsvorhabens Nr. 116 06 113 des Umweltbundesamtes
Schriftenreihe der Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin Dortmund Fb 796
Wirtschaftsverlag NW Bremerhaven

Kalberlah, F.; Schneider, K.; Schuhmacher, U.S.; Voss, J.-U. (1999)
Zeitextrapolation und Interspeziesextrapolation bei lokal wirksamen Stoffen mit begrenzter Datenlage
Schriftenreihe der Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin Fb 862
Wirtschaftsverlag NW Bremerhaven

- Knaapen, A.M.; Borm, P.J.A.; Albrecht, C.; Schins, R.P.F. (2004)
Inhaled particles and lung cancer. Part A: Mechanisms
International Journal of Cancer, 109, 799-809
- Krombach, F.; Münzing, S.; Allmeling, A.-M.; Gerlach, J.T.; Behr, J.; Dörger, M. (1997)
Cell size of alveolar macrophages: an interspecies comparison
Environmental Health Perspectives, 105, Suppl. 5, 1261-1263
- Kuempel, E.D.; Smith, R.J.; Dankovic, D.A.; Stayner, L.T. (2009)
Rat- and human-based risk estimates of lung cancer from occupational exposure to poorly-soluble particles: A quantitative evaluation
Journal of Physics: Conference Series, 151, 012011
- Kuempel, E.D.; Tran, C.L.; Smith, R.J.; Bailer, A.J. (2001)
A biomathematical model of particle clearance and retention in the lungs of coal miners. II. Evaluation of variability and uncertainty
Regulatory Toxicology and Pharmacology, 34, 88-101
- Leroi, A.M.; Koufopanou, V.; Burt, A. (2003)
Cancer selection
Nature Reviews. Cancer, 3, 226-231
- Lippmann, M.; Schlesinger, R.B. (1984)
Interspecies comparisons of particle deposition and mucociliary clearance in tracheobronchial airways
Journal of Toxicology and Environmental Health, 13, 441-469
- Malkinson, A.M. (1992)
Primary lung tumors in mice: an experimentally manipulable model of human adenocarcinoma
Cancer Research, 52, 2670s-2676s
- Malkinson, A.M. (1998)
Molecular comparison of human and mouse pulmonary adenocarcinomas
Experimental Lung Research, 24, 541-555

McKenna, I.M.; Gordon, T.; Chen, L.C.; Anver, M.R.; Waalkes, M.P. (1998)
Expression of metallothionein protein in the lungs of Wistar rats and C57 and DBA mice exposed to cadmium oxide fumes

Toxicology and Applied Pharmacology, 153, 169-178

Méndez, L.B.; Gookin, G.; Phalen, R.F. (2010)
Inhaled aerosol particle dosimetry in mice: a review
Inhalation Toxicology, 22, 1032-1037

Mercer, R.R.; Russell, M.L.; Roggli, V.L.; Crapo, J.D. (1994)
Cell number and distribution in human and rat airways
American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology, 10, 613-624

Millage, K.K.; Bergman, J.; Asgharian, B.; McClellan, G. (2010)
A review of inhalability fraction models: discussion and recommendations
Inhalation Toxicology, 22, 151-159

Miller, F.J. (2000)
Dosimetry of particles in laboratory animals and humans in relationship to issues surrounding lung overload and human health risk assessment: a critical review
Inhalation Toxicology, 12, 19-57

MPPD (2011)
Multiple-Path Particle Dosimetry Model (MPPD v 2.11). A Model for Human and Rat Airway Particle Dosimetry
<http://www.ara.com/products/mppd.htm>

Newton, P.E. (2002)
Fundamental inhalation toxicology
In: Derelanko, M.J.; Hollinger, M.A., Handbook of Toxicology, 2nd ed., CRC Press LLC, 267-330

Nikitin, A.Y.; Alcaraz, A.; Anver, M.R.; Bronson, R.T.; Cardiff, R.D.; Dixon, D.; Fraire, A.E.; Gabrielson, E.W.; Gunning, W.T.; Haines, D.C.; Kaufman, M.H.; Linnoila, R.I.; Maronpot, R.R.; Rabson, A.S.; Reddick, R.L.; Rehm, S.; Rozengurt, N.; Schuller, H.M.; Shmidt, E.N.; Travis, W.D.; Ward, J.M.; Jacks, T. (2004)
Classification of proliferative pulmonary lesions of the mouse: recommendations of the mouse models of human cancers consortium
Cancer Research, 64, 2307-2316

Oberdörster, G. (1988)

Lung clearance of inhaled insoluble and soluble particles

Journal of Aerosol Medicine, 1, 289-330

Oberdörster, G. (1989)

Dosimetric principles for extrapolating results of rat inhalation studies to humans, using an inhaled Ni compound as an example

Health Physics, 57, Suppl. 1, 213-220

Oberdörster, G. (1996)

Significance of particle parameters in the evaluation of exposure-dose-response relationships of inhaled particles

Particulate Science and Technology, 14, 135-151

Oberdörster, G. (2010)

Dosimetrische Extrapolation von Ergebnissen aus Rattenstudien zur Ableitung von Expositions-Standards. Vortrag Symposium Luftgrenzwerte, Berlin, 16.-17. September 2010

[http://www.bdi.eu/download_content/KlimaUndUmwelt/Oberdoerster\(1\).pdf](http://www.bdi.eu/download_content/KlimaUndUmwelt/Oberdoerster(1).pdf)

Oberdörster, G.; Ferin, J.; Lehnert, B.E. (1994)

Correlation between particle size, in vivo particle persistence, and lung injury

Environmental Health Perspectives, 102, Suppl. 5, 173-179

Oller, A.R.; Oberdörster, G. (2010)

Incorporation of particle size differences between animal studies and human workplace aerosols for deriving exposure limit values

Regulatory Toxicology and Pharmacology, 57, 181-194

Pauluhn, J. (2011)

Poorly soluble particulates: searching for a unifying denominator of nanoparticles and fine particles for DNEL estimation

Toxicology, 279, 176-188

Pepelko, W.E. (1987)

Feasibility of dose adjustment based on differences in long-term clearance rates of inhaled particulate matter in humans and laboratory animals

Regulatory Toxicology and Pharmacology, 7, 236-252

- Peto, R.; Roe, F.J.C.; Lee, P.N.; Levy, L.; Clack, J. (1975)
Cancer and ageing in mice and men
British Journal of Cancer, 32, 411-426
- Phalen, R.F.; Mendez, L.B. (2009)
Dosimetry considerations for animal aerosol inhalation studies
Biomarkers, 14, Suppl. 1, 63-66
- Phalen, R.F.; Mendez, L.B.; Oldham, M.J. (2010)
New developments in aerosol dosimetry
Inhalation Toxicology, 22, Suppl. 2, 6-14
- Raabe, O.G.; Yeh, H.C.; Newton, G.J.; Phalen, R.F.; Velasquez, D.J. (1975)
Deposition of inhaled monodisperse aerosols in small rodents
In: Walton, W.H., *Inhaled Particles IV*, Pergamon Press, 3-21
- Roller, M.; Akkan, Z.; Hassauer, M.; Kalberlah, F. (2006)
Risikoextrapolation vom Versuchstier auf den Menschen bei Kanzerogenen. Fb 1078
Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin Dortmund/Berlin/Dresden,
Wirtschaftsverlag NW Bremerhaven
- Sanner, T.; Dybing, E. (2005)
Comparison of carcinogen hazard characterisation based on animal studies and
epidemiology
Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology, 96, 66-70
- Schmidt, M.; Hölzel, D. (2001)
Analyse der klinischen und epidemiologischen Daten des Tumorregisters München:
Bronchialkarzinom – Datenquellen, Befundverteilung und Prognose
<http://www.med.uni-giessen.de/akkk/info/13/abstracts/schmidtm.pdf>
- Schroeter, J.D.; Kimbell, J.S.; Asgharian, B. (2006)
Analysis of particle deposition in the turbinate and olfactory regions using a human
nasal computational fluid dynamics model
Journal of Aerosol Medicine, 19, 301-313
- Snipes, M.B. (1989)
Long-term retention and clearance of particles inhaled by mammalian species
CRC Critical Reviews in Toxicology, 20, 175-211

- Snyder, J.C.; Teisanu, R.M.; Stripp, B.R. (2009)
Endogenous lung stem cells and contribution to disease
Journal of Pathology, 217, 254-264
- Speakman, J.R. (2005)
Body size, energy metabolism and lifespan
Journal of Experimental Biology, 208, 1717-1730
- Subramaniam, R.P.; Asgharian, B.; Freijer, J.I.; Miller, F.J.; Anjilvel, S. (2003)
Analysis of lobar differences in particle deposition in the human lung
Inhalation Toxicology, 15, 1-21
- Sullivan, J.P.; Minna, J.D.; Shay, J.W. (2010)
Evidence for self-renewing lung cancer stem cells and their implications in tumor initiation, progression, and targeted therapy
Cancer and Metastasis Reviews, 29, 61-72
- Tran, C.L.; Buchanan, D.; Cullen, R.T.; Searl, A.; Jones, A.D.; Donaldson, K. (2000)
Inhalation of poorly soluble particles. II. Influence Of particle surface area on inflammation and clearance
Inhalation Toxicology, 12, 1113-1126
- Waalkes, M.P.; Liu, J.; Kasprzak, K.S.; Diwan, B.A. (2004)
Minimal influence of metallothionein over-expression on nickel carcinogenesis in mice
Toxicology Letters, 153, 357-364
- Wakamatsu, N.; Devereux, T.R.; Hong, H.H.; Sills, R.C. (2007)
Overview of the molecular carcinogenesis of mouse lung tumor models of human lung cancer
Toxicologic Pathology, 35, 75-80
- Wallenborn, J.G.; Kovalcik, K.D.; McGee, J.K.; Landis, M.S.; Kodavanti, U.P. (2009)
Systemic translocation of ⁷⁰zinc: kinetics following intratracheal instillation in rats
Toxicology and Applied Pharmacology, 234, 25-32
- Wallenborn, J.G.; McGee, J.K.; Schladweiler, M.C.; Ledbetter, A.D.; Kodavanti, U.P. (2007)
Systemic translocation of particulate matter-associated metals following a single intratracheal instillation in rats
Toxicological Sciences, 98, 231-239

WHO, World Health Organization (2006)

Environmental Health Criteria 234, Elemental Speciation in Human Health Risk Assessment

IPCS, International Programme on Chemical Safety; World Health Organization, Geneva

Wolff, R.K. (1996)

Experimental investigation of deposition and fate of particles: animal models and interspecies differences

In: Gradon, L.; Marijnissen, J.C., *Aerosol Inhalation: Recent Research Frontiers*, Springer Netherlands, 247-263

Yeh, H.C.; Schum, G.M. (1980)

Models of human lung airways and their application to inhaled particle deposition
Bulletin of Mathematical Biology, 42, 461-480

US EPA 2009

Integrated Science Assessment for Particulate Matter

EPA/600/R-08/139F National Center for Environmental Assessment-RTP Division

Office of Research and Development, U.S. Environmental Protection Agency

Research Triangle Park, NC, December 2009, <http://epa.gov/ncea/isa/index.htm>