

Die pulmonale Oberfläche – Vergleich Ratte und Mensch –

Joachim Bruch

Univ. Prof. Dr. med.

em v. Inst. f. Hygiene & Arbeitsmedizin, Universitätsklinikum Essen

Email j.bruch@uni-essen.de

Themen

(I) Hintergrund -Informationen

- a. Verwendung der pulmonalen Oberfläche (pS) in der Klinik und Toxikologie
- b. Unterschiede des Atemtraktes von Ratte und Mensch; Bedeutung für eine quantitative Beschreibung der Atemwege und der pS beim Vergleich beider Spezies
- c. Verfahren zur Bestimmung der Geometrie der Atemwege und der pS

(II) Die Anwendung der pS zur Normalisierung der tox. Befunde von der Ratte auf den Menschen bei Ableitung des Allg. Staubgrenzwertes (OEL) von GBS

(III) Anmerkungen zu dem von der Kommission gewählten Verfahren

Verwendung der pulmonal surface (pS); quantitative Daten

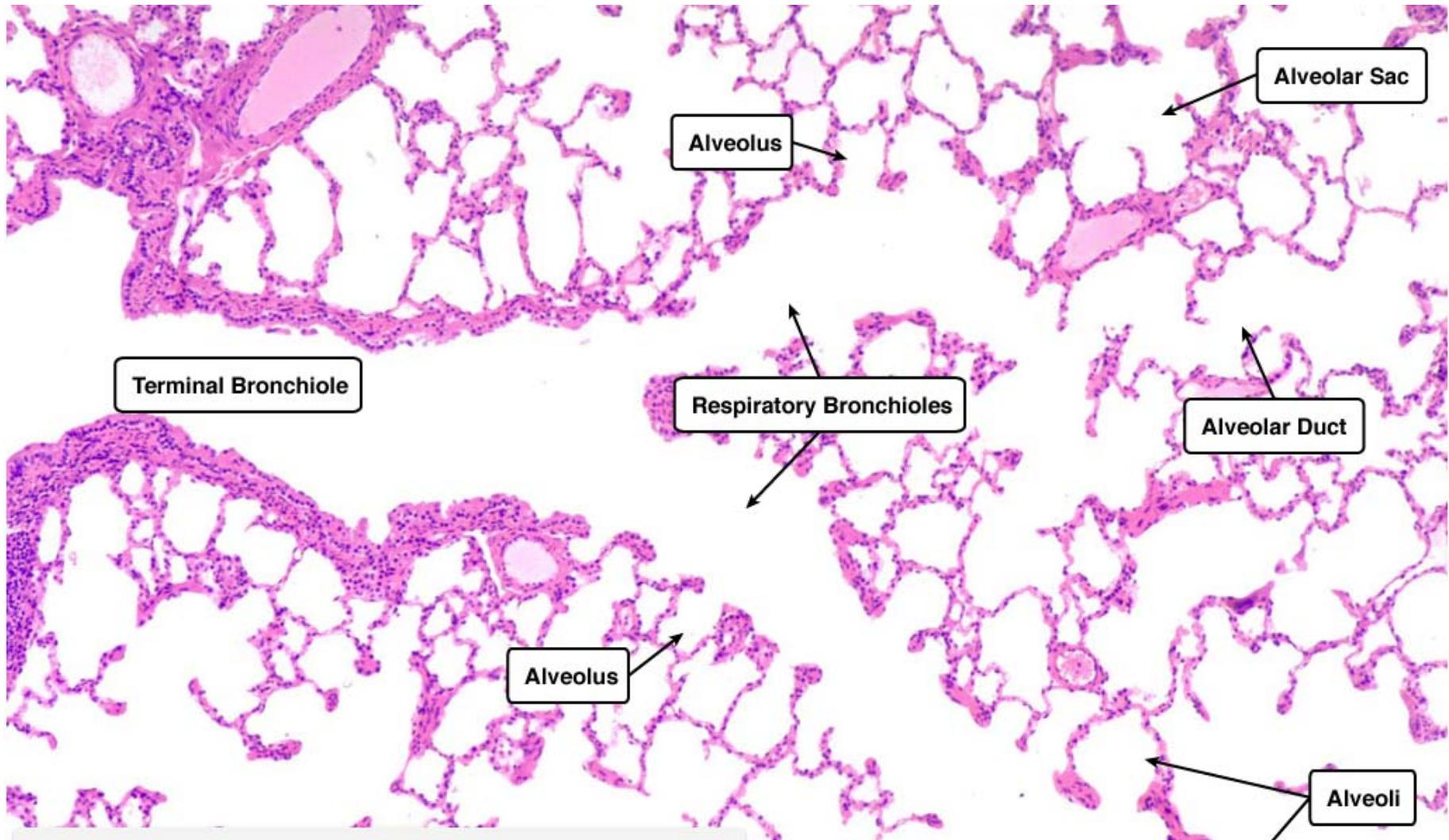
- Klinik: Bestimmung der Diffusionsparameter für Anaesthetika
- Dosimetrie von in der Lungentiefe wirkenden Pharmaca
- Toxikologie: Zielgewebe von toxischen Gasen und löslichen Komponenten aus ambient particles (z.B. combustion generated nanoparticles), radioaktive Partikel & Gase
- Risk assessment: Extrapolation von Tierdaten auf den Menschen; Interspecies Normalisierung, Dosimetrie für in vitro-Tests

Viele und unterschiedliche Bereiche der Klinik & Forschung sind auf valide Angaben zur Lungenstruktur angewiesen. Die Fachgesellschaften bemühen sich um Normierungsgrundlagen, ATS, ERS, ICRP

Wichtige anatomische Daten für eine quantitative Beschreibung des Atemtraktes bei der Ratte und beim Menschen

- Anatomisch funktionelle Unterscheidung in upper respiratory tract (URT) und lower respiratory tract (LRT)
 - URT Luft leitende Wege; Bronchialbaum
Mensch: 15- 25 dichtomische Aufteilungen u. a. je nach Lungenlappen gewonnene Daten anhand von lung casts
 - LRT Gas-Austausch Gewebe: bronchioli respiratorii; Alveolargänge, Alveoli, alveolar sacs
Synonyme: respiratory units, inner lung surface, acinus
- Anatomische Unterschiede Ratte / Mensch
 - URT Mensch: dichtomische Aufteilung der Subbronchien; Ratte nahezu gerade verlaufender (monopodial) Bronchus, rechwinklig abzweigende Subbronchien //
 - LRT Mensch: 3-5 Generationen von bronchioli respiratorii; Ratte 0-1 bronchiolus respiratorius
 - Wegen der unterschiedlichen anatomischen Abzweigungen (dichtomisch vs monopodial, Anzahl der Tochtergenerationen) werden in unterschiedlichen respiratory units signifikant differente Partikelmengen deponiert. Diese Unterschiede sind bei der Ratte größer als beim Menschen

Elemente der *respiratory unit*



Verfahren zur Bestimmung der Geometrie des Atemtraktes und human & rat airway particle dosimetrie

- Die Atemwege; conducting airways, Bronchien

- Lungenausgüsse (lung casts) und Vermessung mit dem Dissektionsmikroskop: Generationenfolge; Winkel der Aufzweigung, Durchmesser etc

- Ziel: Modellierung 'typical lung path'; aktuell MPPD 2

The Multiple-Path Particle Dosimetry (MPPD) model (CIIT) (RIVM);

The MPPD model is a computational model that can be used for estimating human and rat airway particle dosimetry. The model is applicable to risk assessment, research, and education.

Members of the CIIT project team were Dr. Bahman Asgharian, Mr. Owen Price, and Dr. Fred Miller. Members of the RIVM project team were Dr. Bahman Asgharian and Mr. Owen Price. Members of the RIVM project team were Drs. Flemming Cassee and Renata de Winter-Sorkina.

- Ergebnis: Schätzung der Dosimetrie der Mensch- und Ratten-Atemwege (URT) sowie

- Abschätzung der Dosismenge Ratte vs Mensch in dem LRT aber **keine** quantitative Darstellung der Geometrie des LRT

Bestimmungsverfahren der Geometrie der respiratorischen unit incl. der pS

- Morphometrische Analyse
 - Was: Bestimmung der Elemente des Gasaustauschgewebes: Anzahl, Größe der funktionellen Elemente: Typ II Pneumozyten, Alv. Makrophagen; Aufteilung der resp. Bronchiolen, ductus alveolares, pulmonal surface (pS); Anzahl, Form Volumen der Alveolen etc
 - Wie: TEM Schnitte, mean linear intercept (MLI), Dissector-Verfahren f. d. Anzahlbestimmung (numeric density), normierte Fixierung (Druck, Dauer)
Hsia, C.C., Hyde, D.M., Ochs, M. & Weibel, E.R.
An official research policy statement of the American Thoracic Society/European Respiratory Society: standards for quantitative assessment of lung structure.
Am J Respir Crit Care Med 181, 394-418 (2010).
- Indirekte Ableitung Yeh et al. 1979 (Ratte), 1980 (Mensch) zitiert von EPA 2004 und Brown et al 2005
 - für die Atemwege (URT): lung casts von einer (!) Ratte bzw von einem Menschen (!); Definition eines typical single lung path
 - für die respiratory units (LRT): Zahlreiche Annahmen über die Aufzweigung der Atemwege, der respiratorischen Bronchioli, Anzahl u. Form der Alveolen etc.

Die Anwendung der pulmonary surface zur Normalisierung der tox. Befunde von der Ratte auf den Menschen zur Ableitung des Allg. Staubgrenzwertes (OEL) von GBS im Verfahren A

- Aus der GBS Begründung als zentrale Hypothese für die Normalisierung von der Ratte auf den Menschen (S 55):

Wegen speziesspezifischer Unterschiede in der Anatomie des Respirationstraktes, im Atemminutenvolumen, in der Partikelclearance und in der Größe der Lungenoberfläche werden bei gleicher Expositionskonzentration und gleicher Partikelgrößenverteilung in der Lunge der Ratte und des Menschen unterschiedliche Partikeldosen pro m² Lungenoberfläche deponiert.

Und weiter: „.... die Empfindlichkeit der beiden Spezies Ratte und Mensch bei gleicher Dosis/m² Lungenoberfläche nicht unterschiedlich ist,“ Offene Frage: Ist die Lungenoberfläche als target-Gewebe eine aduersen Wirkung von GBS gemeint („The inner lung surface is the key site of reaction“; gleiche Empfindlichkeit von was?) oder **Surrogat** einer Spezies-zu-Spezies-Normalisierung? Der Text der Begründung ist ambiguous.

- Das Verfahren und die Begründung für den GBS-Grenzwert ist analog zu EPA 2004 bzw. Brown et al 2005 für die Risikobewertung von *particulate matter*. --- Hypothese dort:

“The human and rat doses may be scaled by a normalizing parameter to better quantify dose to specific target sites of the respiratory tract. If epithelial cells are the target, the TB or Alv surface area would be the most likely normalizing parameter. If the interstitium is the target, then the lung mass or weight may be better parameters. If activation of macrophages is a causal process, then the number of macrophages would be an appropriate normalizing parameter.“

- Mein Kommentar: particulate matter im Kontext der EPA meint besonders ambient particles mit vielfältigen löslichen Verbindungen von z.T hoher biologischer Aggressivität (Übergangsmetalle). Eine Normalisierung über der pS ist plausibel.

Anmerkungen zu EPA 2004 u. Brown 2005

- Formale Anmerkung: Für die Normalisierung über *die pulmonal surface* bei FRC - Ratte bzw Mensch wird in jeweils einer Tabelle (table 6-8 resp. table 5) auf die Arbeiten von Yeh et al 1979 bzw. 1980 verwiesen (siehe Folie 13).
Beide Yeh et al Arbeiten enthalten nicht die Angaben zur Oberfläche der Lunge Ratte (Folie 14) bzw Mensch Folie 15: Zeile (Generation 25); Spalte S(urface) sind leer. Angaben zur Skalierung von TLC zu FRC fehlen.
- Unsicherheiten bei Yeh et al. 1979 (Ratte) (p 488) heißt es: „As previously mentioned, development of the pulmonary region in present model is based on various assumptions. Therefore, airway dimensions for those airways beyond terminal bronchioles are somewhat arbitrary, but it is believed that the assumptions and mathematical treatments made to obtain those dimensions are reasonable“. Die Yeh et al. 1979, 1980 Daten sind modellhaft an einer (1) Lunge Ratte bzw. Mensch entwickelt worden. Einige der Input-Daten sind per se unsicher (siehe Yeh et 1980, Tabelle III: N term. Bronchiolen: ganze Lunge eigenes Modell 33000 vs N term. Bronchiolen Weibel 1963 66000)
- Weitere Annahmen zur Modellierung sind durch neuere (morphometrische) Daten deutlich präzisiert worden (z.B. Anzahl der Alveolen, Anzahl der terminalen Bronchiolen).
- Weiterhin ist zu bedenken inwieweit eine (1) Lunge über das Modell hinaus Allgemeingültigkeit haben kann: die morphometrischen Messungen an mehreren Lungen zeigen eine deutliche Schwankungsbreite der Basisdaten: Gehr et al 1978: 8 human lungs; alveolar surface 140 qm; „...the variation observed reflecting to some extent from the body size.“
Ochs et al. 2004: 7 human lungs; More on variation: **the mean alveolar number was 480 million (range: 274–790 million; coefficient of variation: 37%)** siehe auch dort table 1 page 122

Die Normalisierung von Ratte auf den Menschen ergeben unterschiedliche Verhältnisse der pS je nach dem Verfahren

- Die GBS Begründung im Bewertungsmodell A benutzt die Normalisierungsverfahren über die pulmonale Oberfläche in der Modellierung von Yeh et al 1979,1980 entsprechend den Verfahren in EPA 2004 und Brown et al. 2005.

Das Verhältnis der Alveolarflächen (FRC) (MAK-GBS, EPA 2004, Brown et al 2005)

Mensch — Ratte

57.22 m² — 0.297 m²: ratio human/rat 193

- Auf der Basis der bestimmter/gemessener Daten im morphometrischen Verfahren gemäß der Vorgaben von ATS und ERS publ. in Hsia et al 2010 können die Daten von Gehr et al 1978 für den Menschen und für die Ratte von Stone et al. 1992 verwendet werden

Mensch — Ratte

143 m² — 0.4 m²: ratio human/rat 358

- **Korrektur Faktor = $358/193 = 1.85$**

- Ein GBS Grenzwert nach Verfahren A müßte bei Verwendung morphometrischer Daten um einen Faktor 1.85 erhöht werden

Weitere Argumente zur Wahl der Verfahrens im MAK-GBS

- MAK-GBS p 55: Gehr erwähnt „true values“; diese sind die für die Gasdiffusion geschätzten Werte (ggfs auch tox. Gase); sie beschreiben nicht die anatomische Lungenoberfläche (Gehr pers. Mitteilung 2013); alle Partikel an der Alveolarwand dringen durch die Oberfläche in die submerse Phase an die anatomische Oberfläche
- Die Lungenoberfläche-Mensch (1 Fall) in Stone et al 1992 stammt aus einem Resektat und ist durch Atektasen post hoc verändert (Gehr pers. Mitteilung 2013)
- Die Daten von Haselton (1972) sind lichtmikroskopische Messungen an (dicken) Schnitten, entsprechen nicht den Vorgaben von ATS,ERS. (s. auch Fraktalphänomene von Oberflächen)
- De Winter & Cassee 2002 (RIVM) Mitentwickler des MPPD geben für die respiratory units die Gehr Daten an (140 m² pS); ebenso IRCP
- Pinkerton KE, Gehr P, Crapo JD. 1992. Architecture and cellular composition of the air-blood barrier. In: *Comparative Biology of the Normal Lung*, Vol I. Treatise on Pulmonary Toxicology (Parent RA, ed). Boca Raton, FL:CRC Press Inc., 121–144 (second edition erscheint demnächst, gibt identische Zahlen wie unten (Gehr pers. Mitteilung 2013))

Table I on p. 123: alveolar surface area (both lungs) in cm ²	
Fisher 344 (female, 26 months)	4,020 ± 25
Man (homo sapiens)	1,430,000 ± 120,000

Resumee

- Vielfach bestätigte, auch aktuelle Daten aus morphometrischen Analysen zeigen eine Geometrie der respiratory units, die signifikant unterschiedlich ist von den im MAK-GBS verwendeten Verfahren aus Yeh et al 1979 u. 1980. Eine Skalierung von TLC auf RFC ist unproblematisch
- Existierende Daten dieser morphometrischen Analysen können für eine Normalisierung Ratte / Mensch von GBS angewendet werden. Eine Korrektur der Grenzwertableitung ist m.E. wissenschaftlich angezeigt (ungeachtet der nachfolgenden Punkte)
- Die Verwendung der inneren Lungenoberfläche (pS) als Normierungsbezug ist für GBS fraglich, da *qua definitionem* ein primärer Effekt auf Alveolarmakrophagen unterstellt werden muß. Alternativ: die Verwendung der inneren Lungenoberfläche als Surrogat ist zu begründen. Notiz: die EPA kann die Verwendung der pS bei *ambient particles* auch mechanistisch begründen
- Die MPPD 2 Dosimetrie kann eine bedeutende Ungleichdeposition von particulate matter in den respiratory units aufzeigen; diese Ungleichheit hängt mit den spezifischen anatomischen und strömungspysikalischen Verhältnissen im jeweiligen Abschnitt des Atemtraktes zusammen: Diese Ungleichdeposition ist bei der Ratte größer als beim Menschen

EPA 2004

TABLE 6-8. SURFACE AREA VALUES FOR LUNG MASS AND OF TRACHEOBRONCHIAL AND ALVEOLAR REGIONS FOR HUMANS AND RATS

	<i>Human</i>		<i>Rat</i>		<i>Human/Rat Ratios</i>	
<i>Lung mass, g</i>	1100		4.34		253	
<i>Surface Areas, m²</i>						
	<u>TB</u>	<u>A</u>	<u>TB</u>	<u>A</u>	<u>TB</u>	<u>A</u>
<i>Values used in analyses</i>	.442 ^a	57.2 ^a	.00235 ^b	.300 ^b	188	191
<i>Other values</i>	.269 ^c	54 ^c				
		150.3 ^d		.55 ^e		

^a Based on morphology of Yeh and Schum (1980) scaled to FRC of 3300 cm³.

^b Based on morphology of Yeh et al. (1979) scaled to FRC of 4 cm³.

^c U.S. EPA (1996a) based on U.S. EPA 1994).

^d Gehr et al. (1978). (143 m² alveolar + 7.3 m² respiratory bronchioles).

^e Mauderly (1979).

ly, these models supply only part of the needed information, mainly lengths and diameters. Dogs, rats and hamsters are often used in inhalation toxicity studies and the lack of appropriate lung models causes difficulties in predicting particle deposition in each species, comparing data among species and hinders ex-

weight. Immediately after the animal was sacrificed, the intact lung was flushed with

Received Feb. 1, '79. Accepted June 14, '79.

¹This work was supported by the National Institute of Environmental Health Sciences and the U.S. Department of Energy under Contract EY-76-C-04-1013 and conducted in animal care facilities fully accredited by the American Association for Accreditation Laboratory Animal Care.

RAT LUNG MODEL

489

TABLE 2

Typical path lung model: rat-whole lung

n	Number of tubes	L (cm)	D (cm)	θ (°)	ψ (°)	S (cm ²)	V (cm ³)	ΣV (cm ³)
1	1	2.680	0.340	0	86	0.091	0.243	0.243
2	2	0.715	0.290	15	90	0.132	0.095	0.338
3	3	0.400	0.263	43	86	0.163	0.065	0.403
4	5	0.176	0.203	36	71	0.162	0.029	0.431
5	8	0.208	0.163	32	59	0.170	0.035	0.466
6	14	0.117	0.134	22	58	0.197	0.023	0.489
7	23	0.114	0.123	16	61	0.273	0.031	0.520
8	38	0.130	0.112	17	58	0.374	0.049	0.569
9	65	0.099	0.095	20	55	0.461	0.046	0.615
10	109	0.091	0.087	15	58	0.648	0.059	0.674
11	184	0.096	0.078	16	61	0.879	0.084	0.758
12	309	0.073	0.070	17	56	1.189	0.087	0.845
13	521	0.075	0.058	17	58	1.377	0.103	0.948
14	877	0.060	0.049	22	58	1.654	0.099	1.047
15	1,477	0.055	0.036	24	57	1.503	0.083	1.130
16 ¹	2,487	0.035	0.020	44	58	0.781	0.027	1.157
17 ²	4,974	0.029	0.017	45	60	1.129	0.033	1.190
18	9,948	0.025	0.016	45	60	2.000	0.050	1.240
19	19,896	0.022	0.015	45	60	3.516	0.077	1.317
20	39,792	0.020	0.014	45	60	6.126	0.123	1.440
21	79,584	0.019	0.014	45	60	12.251	0.233	1.672
22	159,168	0.018	0.014	45	60	24.502	0.441	2.113
23	318,336	0.017	0.014	45	60	49.004	0.883	2.946
24	636,672	0.017	0.014	45	60	98.008	1.666	4.612
25 ³	3 × 10 ⁷	0.0072	0.0086	45	60	—	9.121	13.733

¹ Terminal bronchioles.

² The values for generations distal to the terminal bronchioles were derived from assumptions and formulae and do not represent direct estimates.

Notes:

- Specific rat: bronchial tree has a specific branching pattern which is widely different to the human branching pattern
- Lung casts do not display the respiratory region of the lung
- The determination is processed by a large quantity of assumptions

MODELS OF HUMAN LUNG AIRWAYS AND THEIR APPLICATION TO INHALED PARTICLE DEPOSITION

■ HSU-CHI YEH and G. M. SCHUMF
 Inhalation Toxicology Research Institute,
 Lovelace Biomedical and Environmental Research Institute,
 P.O. Box 5890, Albuquerque, NM 87115

Models of the human respiratory tract were developed based on detailed morphometric measurements of a silicone rubber cast of the human tracheobronchial airways. Emphasis was placed on the "Typical Path Lung Model" which used one typical pathway to represent a portion of the lung, such as a lobe, or to represent the whole lung. The models contain geometrical parameters, including airway segment diameters, lengths, branching angles and angles of inclination to gravity, which are needed for estimating inhaled particle deposition. Aerosol depositions for various breathing patterns and particle sizes were calculated using these lung models and the modified Findeisen-Landahl computational scheme. The results agree reasonably well with recent experimental data. Regional deposition, including lobar deposition fractions, are also calculated and compared with results based on the ICRP lung deposition model.

1. Introduction. Knowledge of initial deposition pattern of inhaled particles is of interest in toxicology studies using laboratory animals and in assessing hazards to people from airborne toxicants present in the environment. One approach to understanding the deposition of inhaled particles is the use of mathematical models.

The geometry of the tracheobronchial airways is one of the factors influencing particle deposition during inhalation. Airway structure parameters which influence particle deposition include airway segment diameters, lengths, branching angles and angles of inclination to gravity (Yeh *et al.*, 1976). Because of the complexity of lung anatomy and the mathematical calculations involved in particle deposition, most of the lung models have had fairly simple simulated lung structures (Davies, 1961; Findeisen, 1935; Horsfield *et al.*, 1971; Landahl, 1950; Olson *et al.*, 1970;

†Present address: Department of Biology, San Diego State University, San Diego, CA, U.S.A.

461

INHALED PARTICLE DEPOSITION OF HUMAN LUNG AIRWAYS 465

TABLE II
 Typical Path Lung Model: Human—Whole Lung

<i>n</i>	Number of tubes	<i>L</i> (cm)	<i>d</i> (cm)	Θ (°)	Φ (°)	<i>S</i> (cm ²)	<i>V</i> (cm ³)	Σ <i>V</i> (cm ³)
1	1	10.0	2.01	0	0	3.17	31.73	31.73
2	2	4.36	1.56	33	20	3.82	16.67	48.40
3	4	1.78	1.13	34	31	4.01	7.14	55.54
4	8	0.965	0.827	22	43	4.30	4.15	59.69
5	16	0.995	0.651	20	39	5.33	5.30	64.98
6	32	1.01	0.574	18	39	8.28	8.36	73.35
7	64	0.890	0.435	19	40	9.51	8.47	81.81
8	128	0.962	0.373	22	36	13.99	13.46	95.27
9	256	0.867	0.322	28	39	20.85	18.07	113.34
10	512	0.667	0.257	22	45	26.56	17.72	131.06
11	1024	0.556	0.198	33	43	31.53	17.53	148.59
12	2048	0.446	0.156	34	45	39.14	17.46	166.05
13	4096	0.359	0.118	37	45	44.79	16.08	182.13
14	8192	0.275	0.092	39	60	54.46	14.98	197.10
15	16,384	0.212	0.073	39	60	68.57	14.54	211.64
16†	32,768	0.168	0.060	51	60	92.65	15.57	227.21
17	65,536	0.134	0.054	45	60	150.09	20.11	247.32
18	131,072	0.120	0.050	45	60	257.36	30.88	278.20
19	262,144	0.092	0.047	45	60	454.81	41.84	320.04
20	524,288	0.080	0.045	45	60	833.84	66.71	386.75
21	1,048,576	0.070	0.044	45	60	1,594.39	111.61	498.36
22	2,097,152	0.063	0.044	45	60	3,188.78	200.89	699.25
23	4,194,304	0.057	0.043	45	60	6,090.97	347.19	1,046.44
24	8,388,608	0.053	0.043	45	60	12,181.95	645.64	1,692.08
25‡	3 × 10 ⁸	0.025	0.030	45	60	—	3,871.80	5,563.88

†Terminal bronchioles.

‡Alveoli.

n = generation number; *L* = airway segment length; *d* = segment diameter; Θ = branching angle; Φ = gravity angle with 90° corresponding to a horizontal tube; *S* = cross-sectional area; *V* = volume; Σ*V* = cumulative volume.

Notes

- Line 25; col. *S* (cm²): no values
- The model is based on a lung cast of one (1!) human lung
- P. Gehr evaluated 8 human lungs by standardized morphometric measurement - gold standard for quantitative evaluation
- confirmed by Ochs et al. 2004, 5 human lung (via sophisticated dissector procedure)
- The paper describes human deposition data and is outdated by MPPDII