

– Risikoabschätzung an Partikeln unterschiedlicher
Quellen von Bauarbeitsplätzen –
Neue Erkenntnisse zur Lungen- und Herz-Kreislauf-spezifischen
Wirkung ultrafeiner Partikel aus Diesel-Motor-Emissionen

Joachim Bruch

Univ. Prof. Dr. med.

IBE GmbH Köln; Lindenbornstr. 22 • 50823 KÖLN

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

•Email joachim.bruch@ibe-cologne.de

•Linz 15.April 2014

Risk Assessment von Feinstaub-Partikeln

- ◆ Ein neuer allgemeiner Staubgrenzwert, Bedeutung für die Einordnung von Risiko an Arbeitsplätzen
- ◆ Einführung: Staub und Lungenkrankheiten
- ◆ Notwendigkeit toxikologischer Untersuchungen an Partikeln – komplexe Exposition an Arbeitsplätzen der Bauindustrie -
- ◆ Mechanismen der Wirkung von Partikeln in der Lunge
- ◆ Möglichkeiten eines Risk Assessment von Partikeln unterschiedlicher Herkunft
 - ◆ Validierung, diskriminanter Dosisbereich, Schwellenwerte
 - ◆ Praktische Beispiele des risk assessment von Partikeln aus der anthropogenen Emission (Industrie, Umwelt, Verkehr), Produktsicherheit
- ◆ komplexe Zusammensetzung und komplexe Wirkung von Dieselmotor Partikel (DMP), Möglichkeiten einer Risikominderung

General threshold limit value for dust (R fraction)¹⁾ (Biopersistent granular dusts)¹⁾

MAK value (2011)	0.3 mg/m³ R²⁾
Peak limitation (2011)	Category II, excursion factor 8
Absorption through the skin (2011)	–
Sensitization (2011)	–
Carcinogenicity (2011)	Category 4
Prenatal toxicity (2011)	Pregnancy Risk Group C
Germ cell mutagenicity (2011)	–

Anmerkung

Im Jahre 2013 wurde ein Allgemeiner Staubgrenzwert für Feinstäube definiert: $0,3 \text{ mg/m}^3$.
Im AGS wurde ein Wert von $0,5 \text{ mg/m}^3$ verabschiedet.

Im Vorfeld der Festlegung des Grenzwertes fanden in Deutschland intensive wissenschaftliche Diskussionen statt: Der neue Grenzwert wirft eine Reihe von Fragen auf, die sowohl den wissenschaftspolitischen, den wissenschaftlichen, und den regulatorischen Bereich berühren. Zurzeit wird dieser Grenzwert auf europäischer Ebene im SCOEL beraten.

Wissensbasis zur Entstehung staubbedingter Lungen-Erkrankungen

- Klinische Beobachtungen in Verbindung mit Expositionen an Arbeitsplätzen
- Gruppen-(Kohorten-)Studien von Exponierten Personen an Arbeitsplätzen
- Toxikologische Untersuchungen in vivo und in vitro (Studien an Tieren und an Zellen)

Staub und Lungenkrankheiten

Weiter Bereich der gesundheitsgefährdenden Effekte > 1 : 100

- Kristalline Kieselsäure; Minenstäube:
Pneumokoniosen (p), coal ,workers p., Silikose (Sandstrahl-Arbeiten)
- Asbest-Fasern: *Interstitial lung diseases (ILD), bronchial carcinoma (BC), mesothelioma*
- Diesel Motor Partikel (DMP): *BC?*
- Feinstäube der Umwelt // anthropogene Quellen:
Emissionen aus der Industrie, Verkehr etc.
pm10; pm2.5; UFP: BC, Asthma, cardiovascular diseases (CVD) → Lebenserwartung

Notwendigkeit zur toxikologischen Risikobewertung - Allgemeine Betrachtung -

1. Bewertung neuer Partikelklassen aufgrund innovativer Materialien und/oder besonderer Bearbeitungstechniken (Z. B. Nanotechnologie, Laserschweißen)
2. Quantitative und qualitative Unterschiede adverser Effekte: zum Beispiel Effekte von Quarz gegenüber Dieselmotor Partikel
3. Variation der Produkteigenschaften durch Besonderheiten der geologischen Lagerstätten (Variation der Halbfertigmaterialien)
4. Variation der Emissionseigenschaften im Grenzbereich von Hochtemperaturprozessen (Management der Motoreigenschaften, Besonderheiten von unsteten Betriebsabläufen (typisch für den Betriebsablauf und Baumaschinen))
5. Multi-vektorielle Effektmechanismen bei komplexen Emissionen: typisch für die Bauindustrie

Gefährdung durch partikelförmige Emissionen an Arbeitsplätzen der Bauindustrie - Branchen-spezifische Herausforderung -

- I. Unterschiedliche Arten partikelförmiger Belastungen in der Bauindustrie
 - I. Mineralstäube durch Abrieb, Oberflächenbearbeitung, Trennschleifen etc
 - II. Motoremissionen von Baumaschinen insbesondere DieselMotorPartikel (DMP)
- II. Präventionsziele und Abklärung der offenen Fragen
 - I. Sind alle Partikeltypen gleich zu bewerten
 - II. Welche **Priorisierung** der Minderung ergeben sich ggfs. aus unterschiedlichen Wirkungsstärken und Wirkungsarten
- III. Minderungspotential; Beispiele: Management des Dieselmotorenbetriebs, Partikelfilter. Umsetzung der neuen Erkenntnisse zur relativen Gefährdung

Voraussetzung eines Risk Assessment von Partikeln im toxikologischen Experiment - Übersicht -

- 1) Klare Unterscheidung zwischen Hazard und Risk Assessment
- 2) Wahl des diskriminanten Dosisfensters: die Non-Overload Domain
- 3) Multi-dose Ansatz: Log.-Skalierung unter Einschluss des Nicht Effekt Levels (NEL)
- 4) Parameter im Zentralpfad der pathogenen Wirkungskette:
 - a) Bewertung des kausalen Startpunktes: z. B. oxidativer Stress, Membran Leakage
 - b) Parameter ähnlich den klinischen Diagnoseparameter (zum Abgleich mit Humandaten)
 - c) Molekulare Dosimetrie
 - d) In der pathogenen Wirkungskette: Identifizierung eines intermediären Endpunktes (z.B. persistierende oxidative DNA-Addukte)
 - > a) Integration vorweggehender Schritte der pathogenen Wirkungskette und
 - > b) notwendige Voraussetzung nachfolgender Schritte zum klinischen Endpunkt (z.B. Krebs, Emphysem etc)

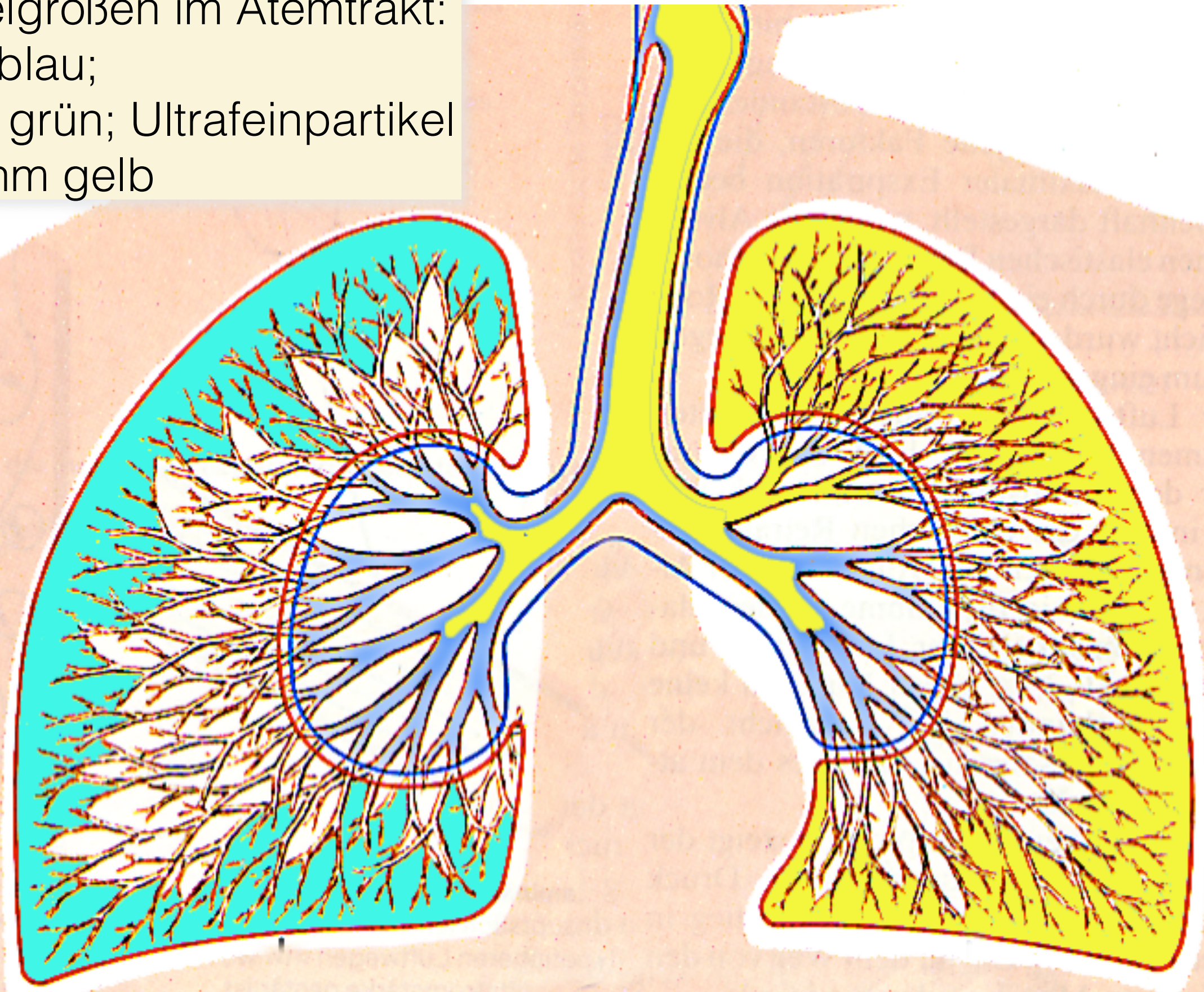
Abfolge der Entstehung von Krankheiten des Atemtraktes nach Exposition mit Partikeln

- Einatmung, Abscheidung und Abwehr von Partikeln in den unterschiedlichen Bereichen des Atemtraktes in Abhängigkeit vom aerodynamischen Durchmesser: s Folie 13
mögliche adverse Effekte in diesen Bereichen (in roter Schrift)
- Bronchien, Bronchiolen: Deposition durch Impaktion größerer Teilchen.
Elimination durch die Mukoziliarleiter
 - **Bronchobstruktion, maligne Effekte (Asthma, BC) s. Folie 14, 15**
- Alveolen, Ductus alveolares: Sedimentation -> Aufnahme von Lungenfresszellen (Alveolarmakrophagen, AM) und aktiver Abtransport auf die Mukoziliarleiter
 - **Zelltoxische Effekte auf die AM:**
Aktivierung und Sekretion von gentoxischen Radikalen (ROS),
Proliferation-stimulierende Interleukinen („Zellhormone“) // —>
Vernarbung, Emphysem, Störung der Blut-Luft-Schranke s. Folie 14

Die AM besorgen den Abtransport von Teilchen aus den Alveolen;
sie sind Ausgangspunkt für durch Partikel bedingte Lungenerkrankungen

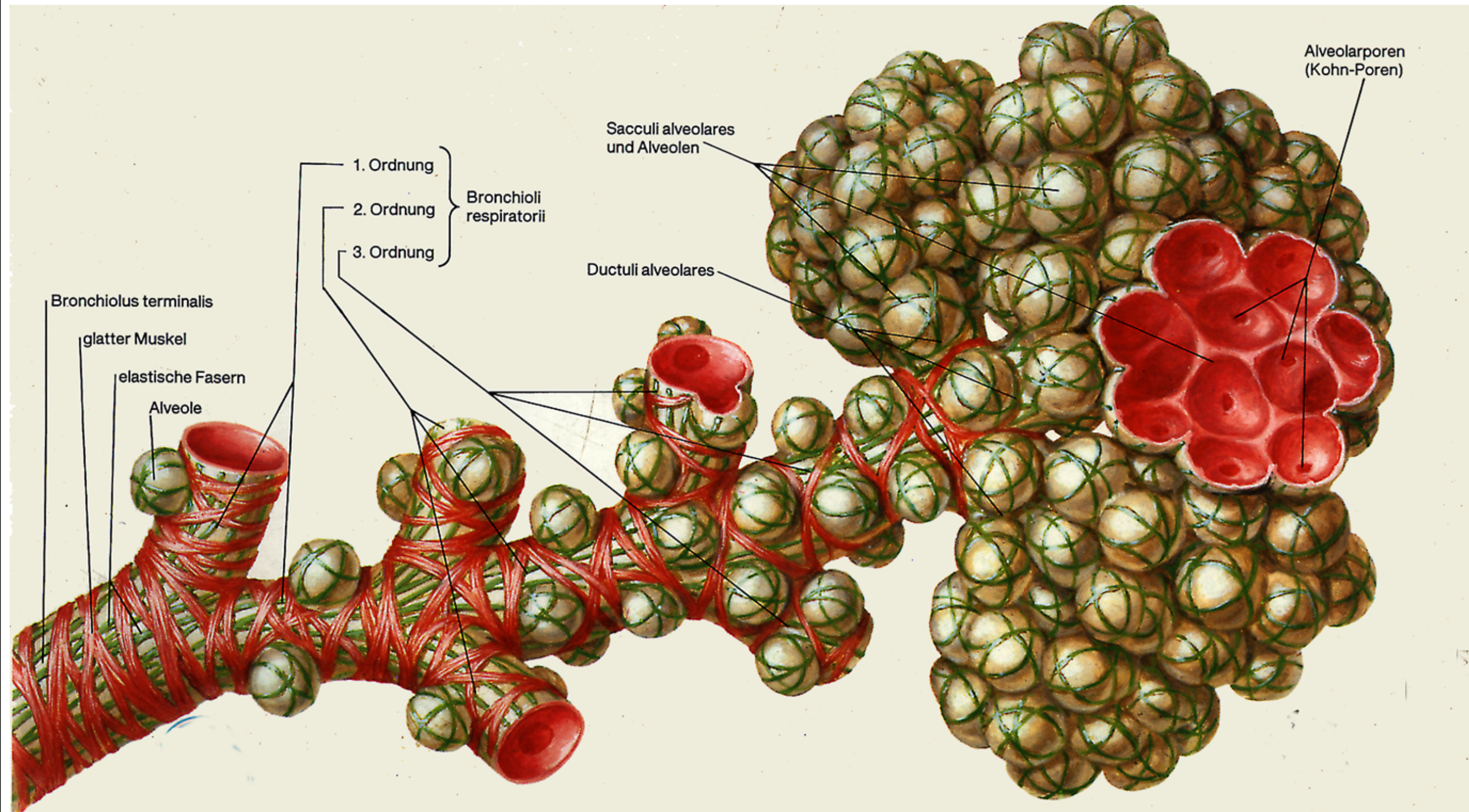
Deposition verschiedener
Partikelgrößen im Atemtrakt:
pm10 blau;
pm2.5 grün; Ultrafeinpartikel
< 100nm gelb

F. Netter M.D.
© C

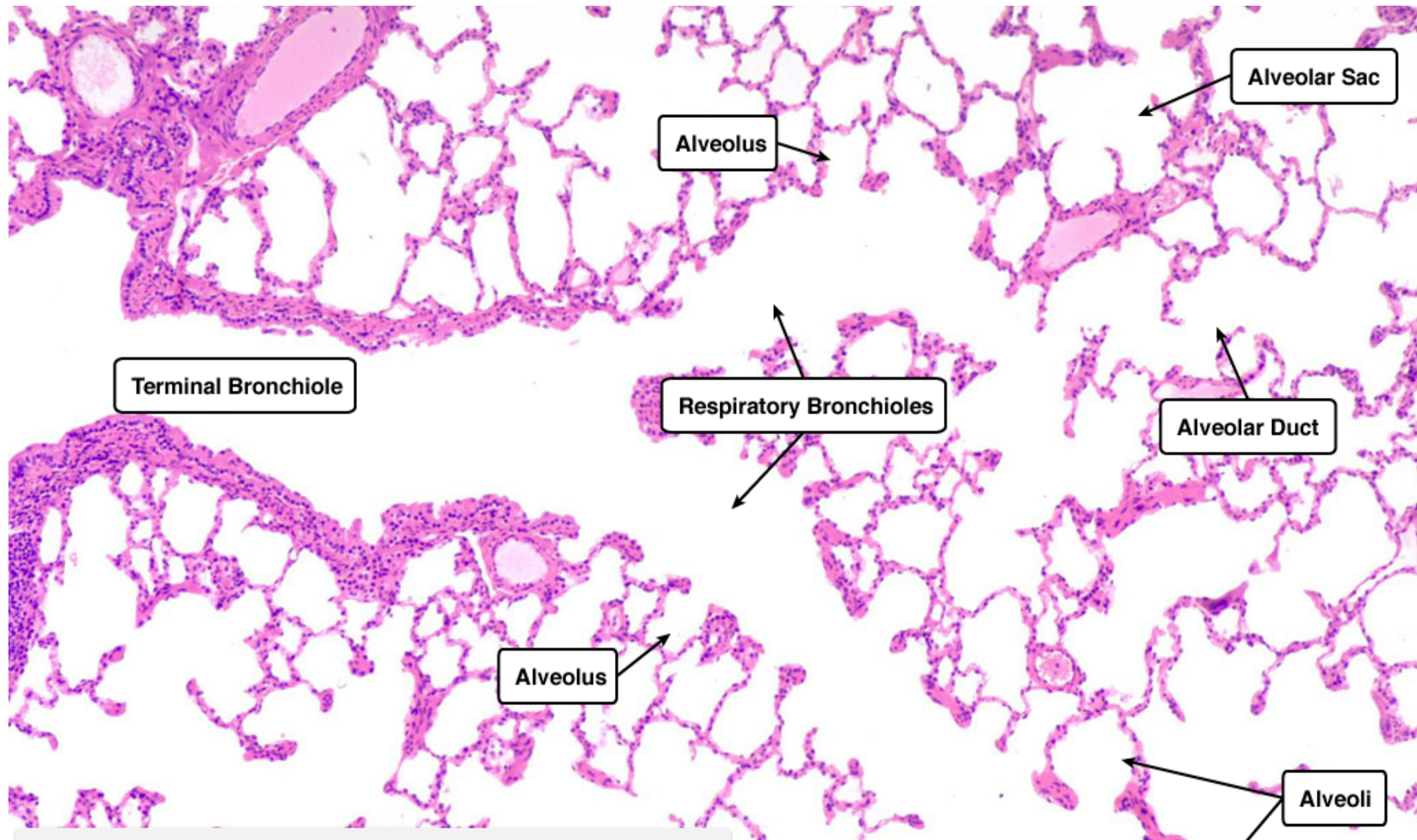


Defense System of the Lung

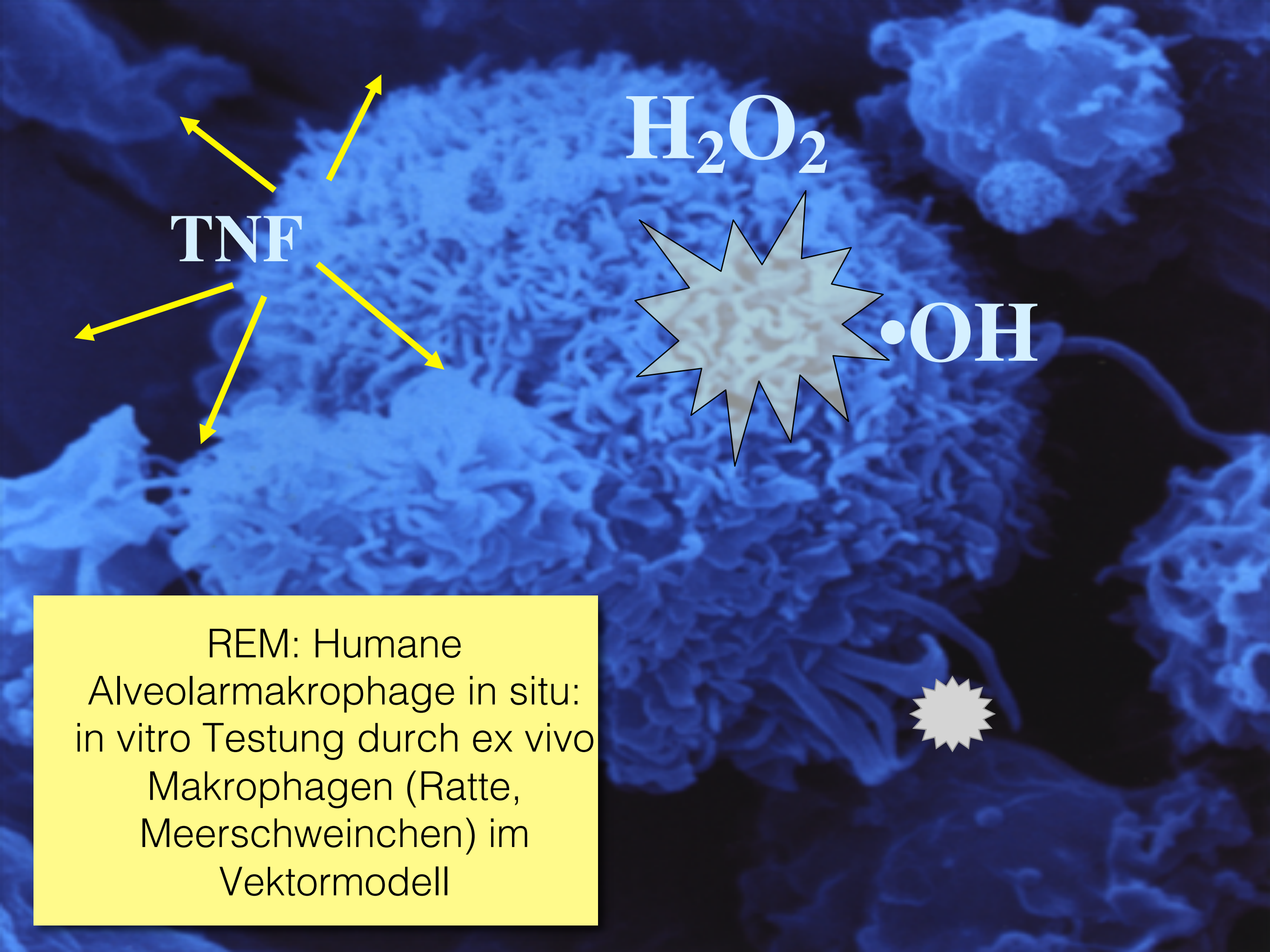
Endbronchial Tree (Bronchioli respiratorii), transition into lung parenchyma (alveoli)



Elemente der *respiratory unit*



Histologischer Schnitt aus vorheriger Abbildung mit terminalen-respiratorischen Bronchiolen und Alveolen

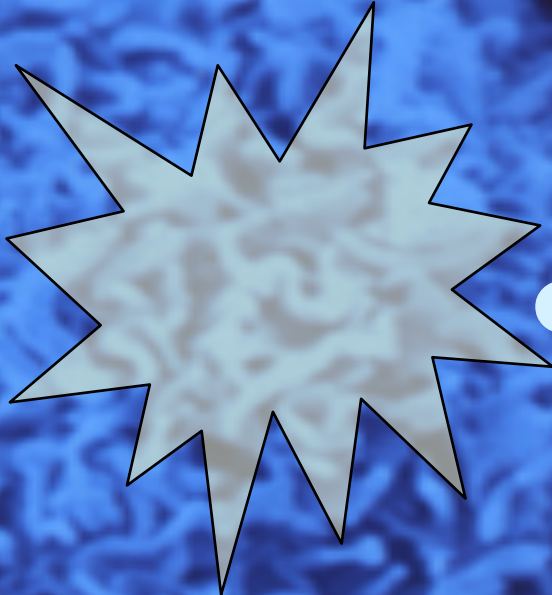


TNF

Diagram showing a central point with five yellow arrows pointing outwards in various directions.

H_2O_2

$\cdot\text{OH}$



REM: Humane
Alveolarmakrophage in situ:
in vitro Testung durch ex vivo
Makrophagen (Ratte,
Meerschweinchen) im
Vektormodell



Stichwort

Hochdosisversuche

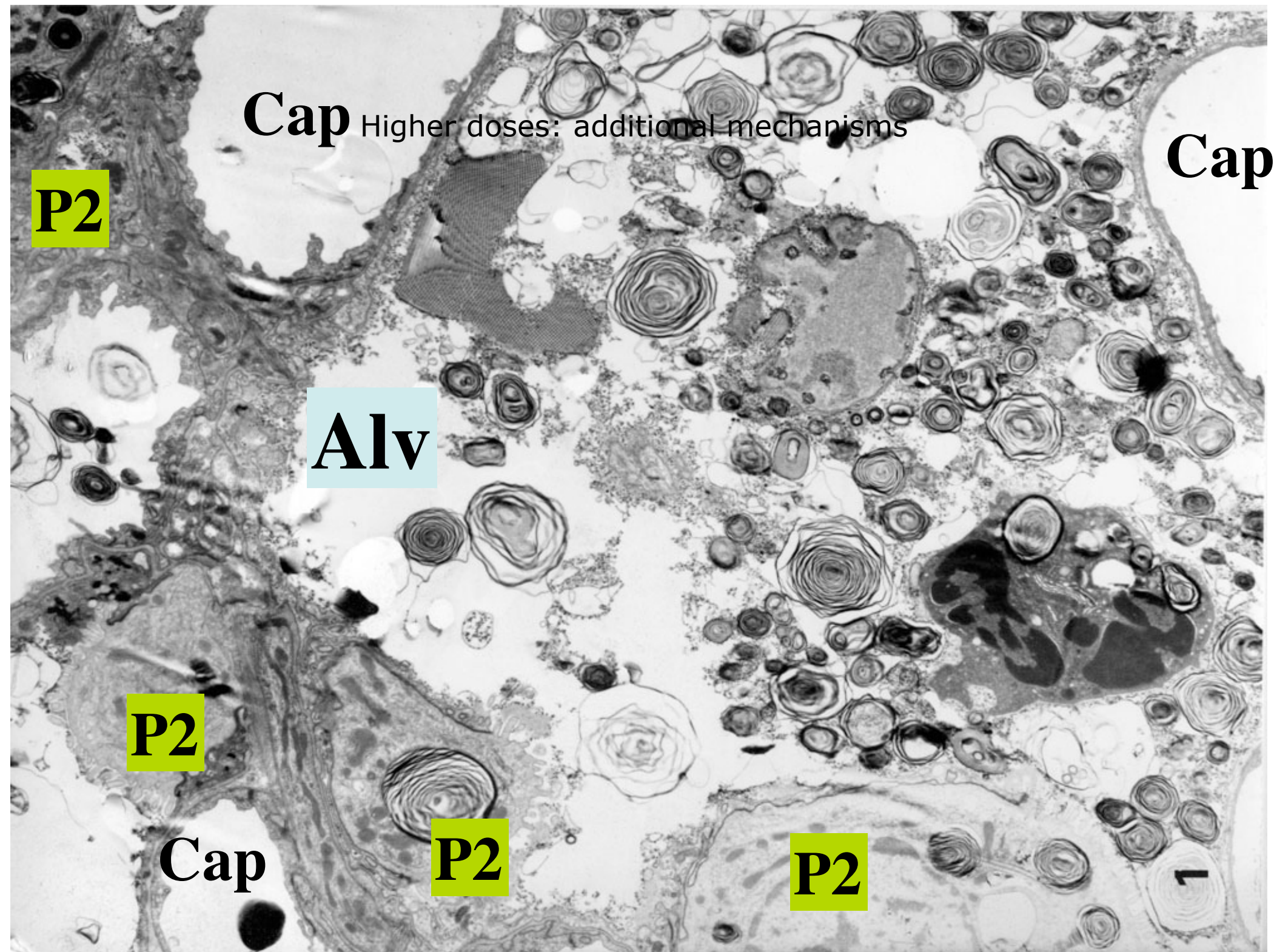
Diskriminantes Dosisfenster

Intermediäre Endpunkte

Toxikologie & Studien-Typ

- Hazard identification
 - Mögliche Effektmechanismen
 - Auswahl kritischer Schritte im Wirkungspfad
 - Identifizierung selektive Parameter für klinische Studien
- Risk assessment
 - Auswahl des richtigen Dosisfensters / keine Overload Versuche
 - Multidosis Ansatz unter Verwendung relevanter Biomarker, Ableitung von Dosis Wirkung Beziehungen
 - gegebenenfalls Identifizierung einer Nichteffektschwelle
 - Extrapolation auf Human Risks

At higher doses additional pathological mechanisms were possibly activated Slikkers et al 2004: here acute silicosis



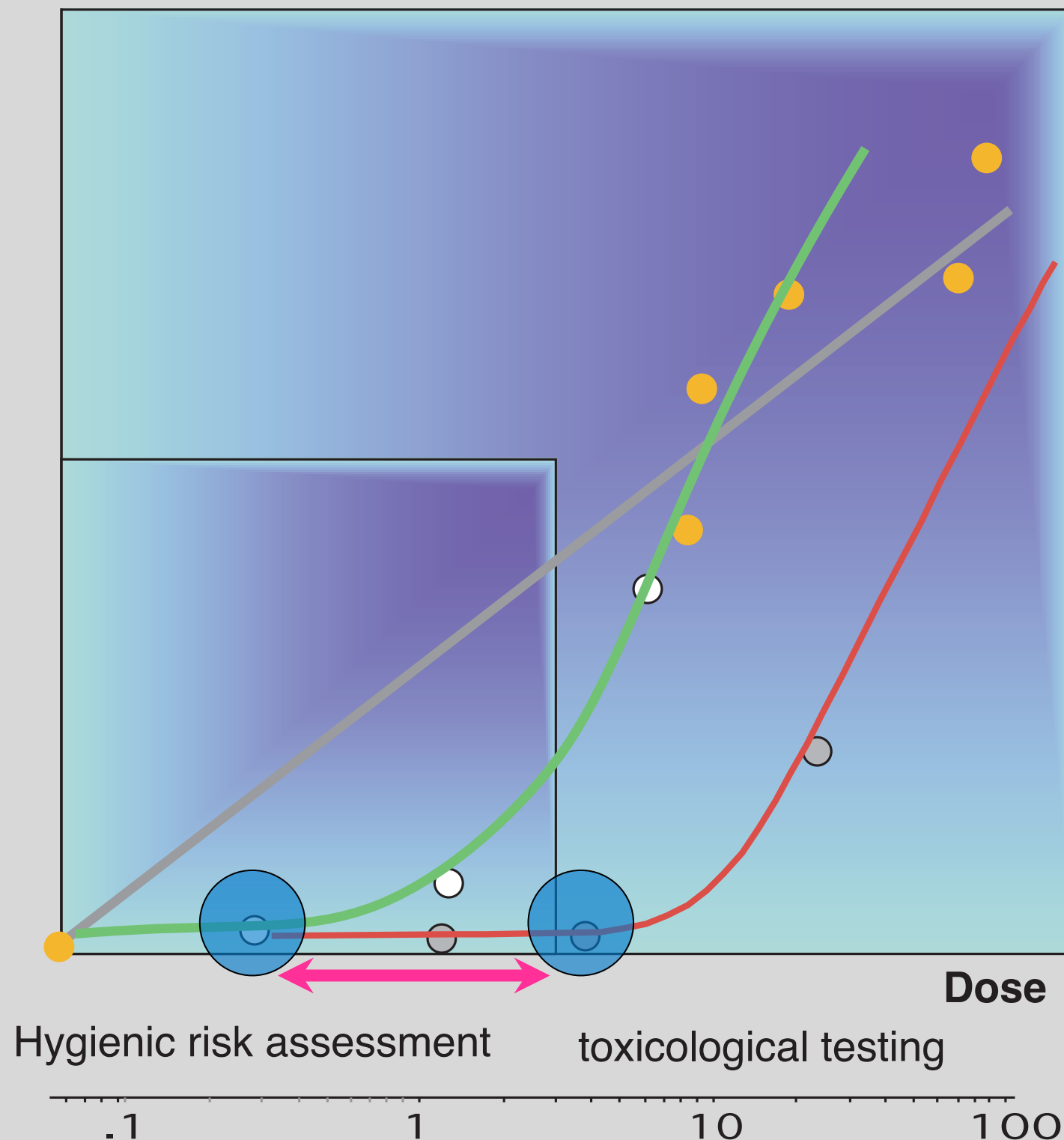
Legende zur Abbildung

Bei höheren Dosen treten neue Effektmechanismen auf, die für die eigentliche Beurteilung im Niedrigdosisbereich nicht belastbar sind: Hier Lipoproteinose bei sehr hoher Quarzbelastung. Die Alveole ist überladen mit Lipiden und Proteinen. Tritt auch beim Menschen bei extremer Belastung auf z.B. Sandstrahlen mit Quarz

Für das Risk Assessment sind Marker der Entzündung incl. oxidative Schädigung der DNA wie in Abb. 27 gezeigt zielführend

Dilemmas von Hochdosisversuchen

Effect



Semiquantitative representation of the default assumption of a linear extrapolation (grey line) from data points of high dose (orange circles) exposure to the low dose domain.

Data from molecular dosimetry yield different thresholds for various dust samples tested in the low dose domain: red and green line. Large circles denote the ZEDs for those dust samples

Legende zu vorliegender Abbildung

- Fälschliche Annahme durch Verwendung von Datenpunkten aus dem Dosisbereich „toxikologische Testung“ unter Einbezug 0-Dosis/0-Effektpunktes (gelbe Kreise, graue, lineare Dosis Wirkung Beziehung): eine tatsächlich existierende Schwelle im Bereich „hygienic risk assessment“ kann nicht detektiert werden
- Zwei unterschiedliche Proben mit unterschiedlichen Effekten können bei Verwendung von molekularen Markern anhand ihrer zero equivalent dose (ZED, NEL) bemessen werden

Folgen der konservativen Abschätzung aus Hochdosisversuchen

- Parameter nahe am klinischen Endpunkt z.B. Tumorzahlen erfordern hohe Dosen um statistisch zuverlässige Resultate zu liefern
- *Bei höheren Dosen werden zusätzliche pathologische Mechanismen aktiviert, die die für die menschlich Erkrankung wesentliche Niedrigdosis-Toxizität verzerren*
Dose-dependent transitions in mechanisms of toxicity: case studies. Slikkers et al. 2004; Toxic & Appl Pharm
- ★ *Sättigungsphänomene verdecken wesentliche Unterschiede der intrinsischen Toxizität von Staubproben*
- ★ Die Hochdosisversuche sind blind für die im Niedrigdosisbereich potentiell vorhandenen Schwellen oder “no effects levels” (NELs)

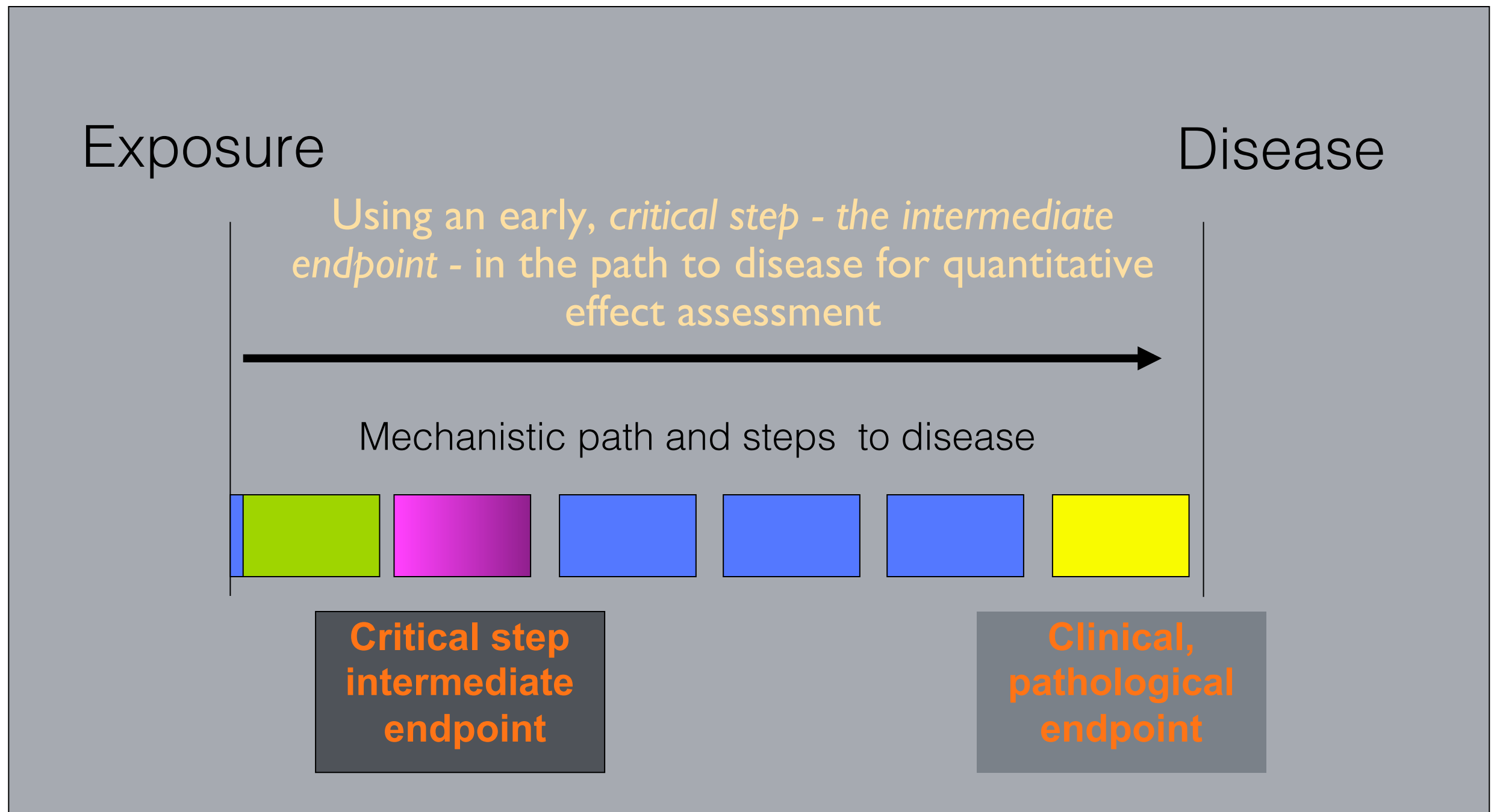
Stichwort

Beispiele intermediäre
Endpunkte

Molekulare Dosimetrie

Oxidative DNA-Addukte

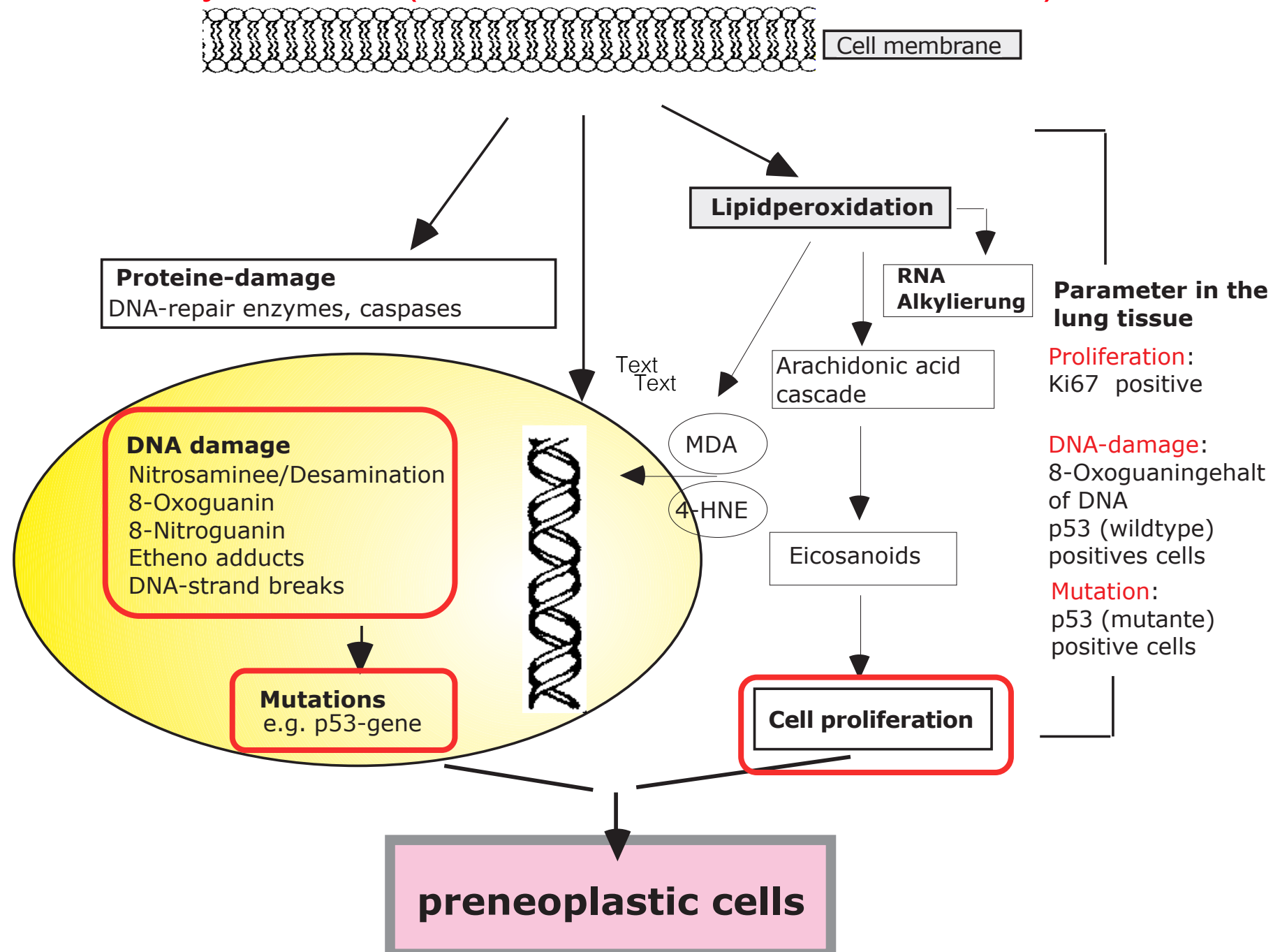
Path of toxic dust effects



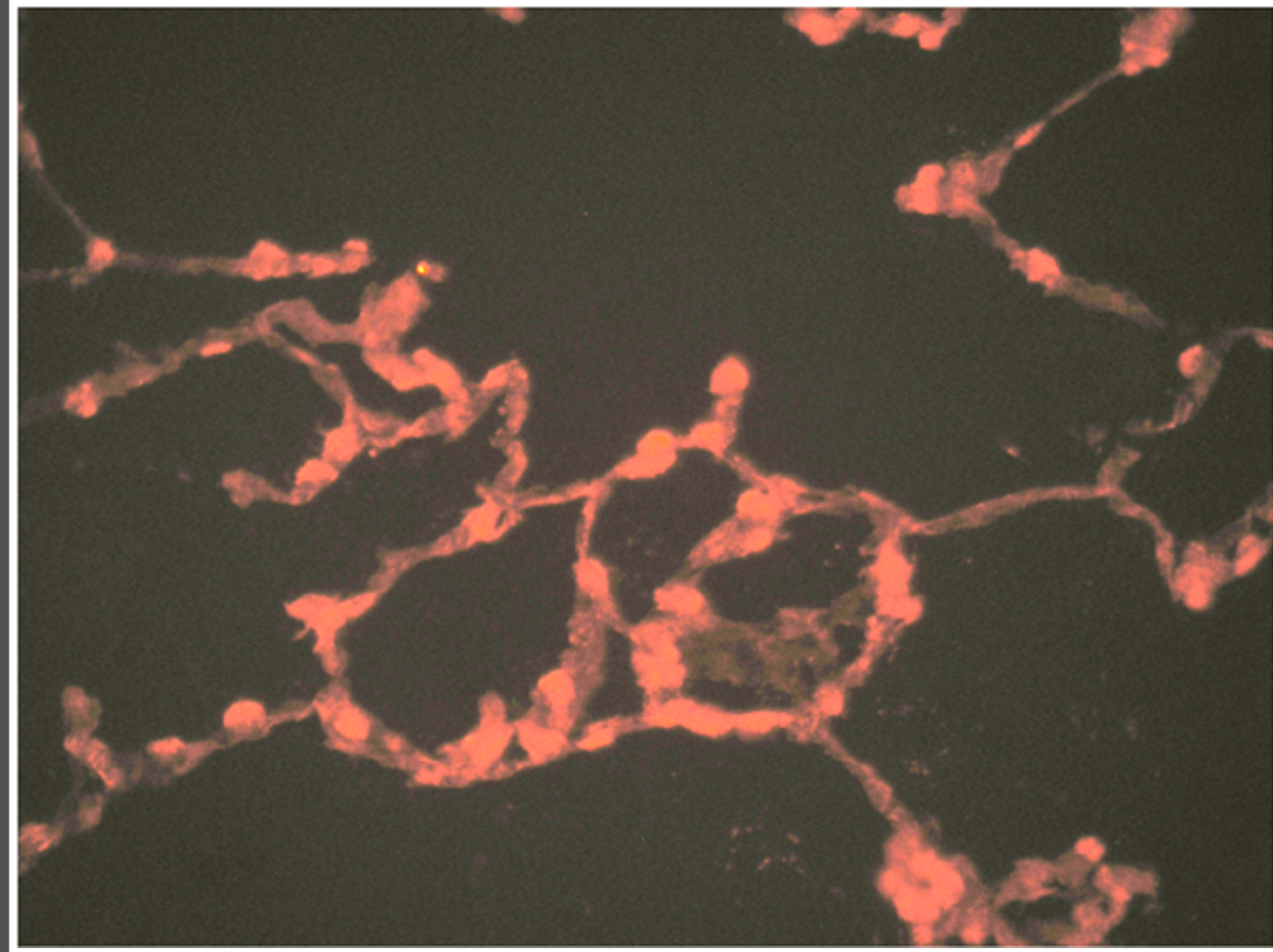
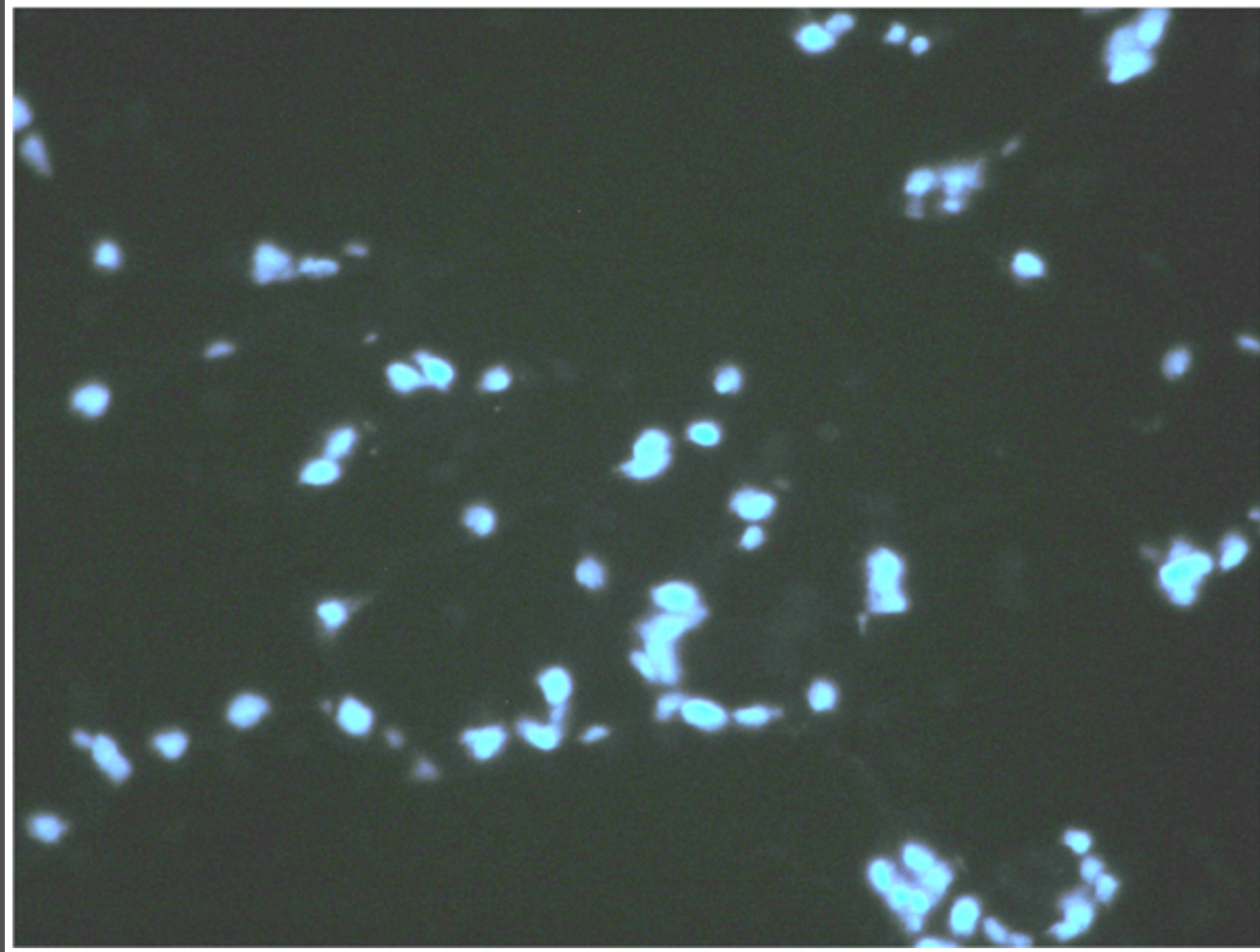
RADICAL CAUSES OF CANCER

IMPACT OF FREE RADICALS AT SITES OF INFLAMMATION ON CELLULAR MOLECULES

red highlighted: sites of molecular dosimetry used for the intermediate endpoint by the IBE (Bruch Nehls Seiler Rehn et al.)—



Results: The ICA detection of DNA adducts (molecular endpoints)



Molecular dosimetry of etheno adducts as molecular endpoint. Chinese Tongken tin mine fine dusts, 2.4 mg intratracheal instillation; post exposure interval 3 months. No inflammation in the BAL but high genotoxicity of the dusts; other BAL params are also positive e.g. phospholipids ratio PG/PI (to be published 2007). Tongken mines have extremely high risks for fibrosis and lung tumors

The etheno adducts are biomarkers for highly mutagenic DNA damage mainly resulting from malonydialdehyde internal (MDA) exposure

Stichwort

Ableitung des diskriminaten
Dosisfensters in vitro & in vivo

Dosimetrie der IBE

Toxizitätsstufen

Dosisfenster für die Testung von Feinpartikeln

- In vitro Testung an ex vivo AM: Obere Dosis 120 pg/AM. Die folgenden Dosen werden über Halbierungsschritte definiert: Also 60, 30, 15, etc pg/AM
- In vivo Testung im ITI Modell an der Ratte: Oberste Dosis 4.8 mg/Ratte. Es folgen die Dosen 2.4, 1.2, 0.6, 0.3 etc mg/Ratte
- Ursprünglich wurden die in vitro Dosen aus dem AM Pool der Rattenlunge errechnet
- In der Publikation 2014 (s. folgendes Bild) sind die Annahmen experimentell belegt

RESEARCH ARTICLE

Toxicological investigations on the respirable fraction of silicon carbide grain products by the *in vitro* vector model

Joachim Bruch^{1,2}, Bernd Rehn¹, Guy Duval-Arnould³, John Efskind⁴, Gerhard Röderer⁵, and Patrick Sébastien³

¹IBE GmbH, Cologne, Germany, ²Medical Faculty, University Duisburg-Essen, Essen, Germany, ³Silicon Carbide Manufacturers' Association (SiCMA), Luxembourg, UK, ⁴Borregard Industries Ltd., Sarpsborg, Norway, and ⁵geroTOX, Stammham, Germany

Abstract

Increased lung cancer incidence with workers at the production site of crude silicon carbide (SiC) using the Acheson process has been reported. Several agents derived from the process were discussed as causative factors. Recently concern had been expressed about the presence of cleavage fragments (CFs) in commercial products fulfilling the WHO criteria for fibers. This study has focused on the toxicological significance of such CFs. The test samples were respirable fractions of five different commercial samples of SiC grains. The CF content (scanning electron microscopy) was in the range 17–493 fibers/μg. Crystalline silica and whiskers could not be detected. Quartz DQ12, cristobalite, SiC whisker, UICC crocidolite and electrocorundum were used as control reference samples. Biological activity was assessed with the *in vitro* vector model (VM) on *ex vivo* rat and guinea pig alveolar macrophages (AMs). The dose range of the VM is derived from calculated AM loads from intratracheal instillation experiments and confirmed by measured AM loads from inhalation studies on alumina monohydrate particles with low biological activity: ≤120 pg/AM. The response of the references was clearly different from that of the SiC grains which yielded low toxicity overall. However, the parameter reactive

Keywords

Cleavage fragments, *in vitro* toxicity, silicon carbide, vector model

History

Received 6 November 2013
Revised 23 December 2013
Accepted 15 January 2014
Published online 20 March 2014

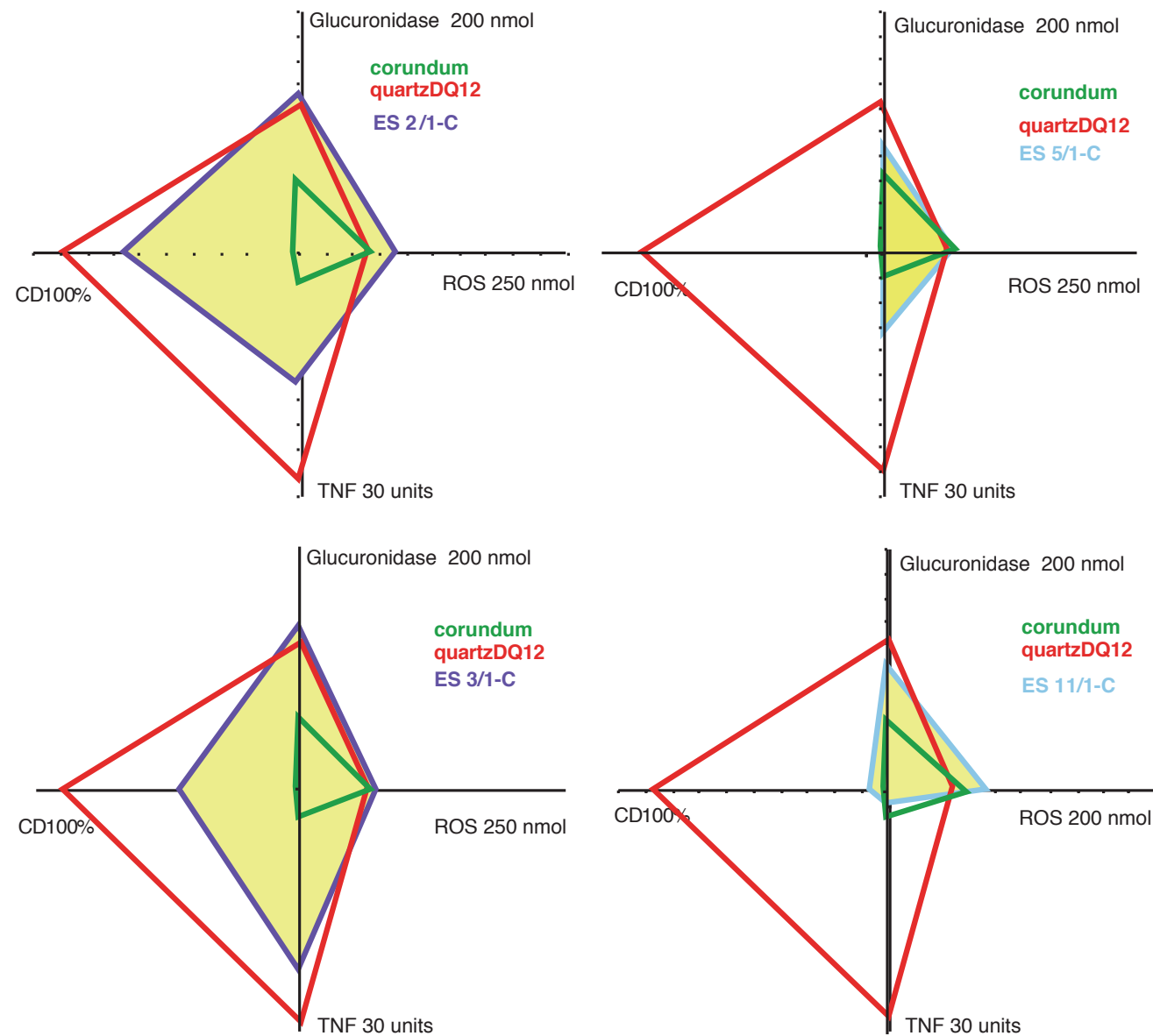
Stichwort

Beispiele der IBE-Verfahren

Daten aus Projekten: EUROSIL,
Tongji Med. Dep. Wuhan PRC;

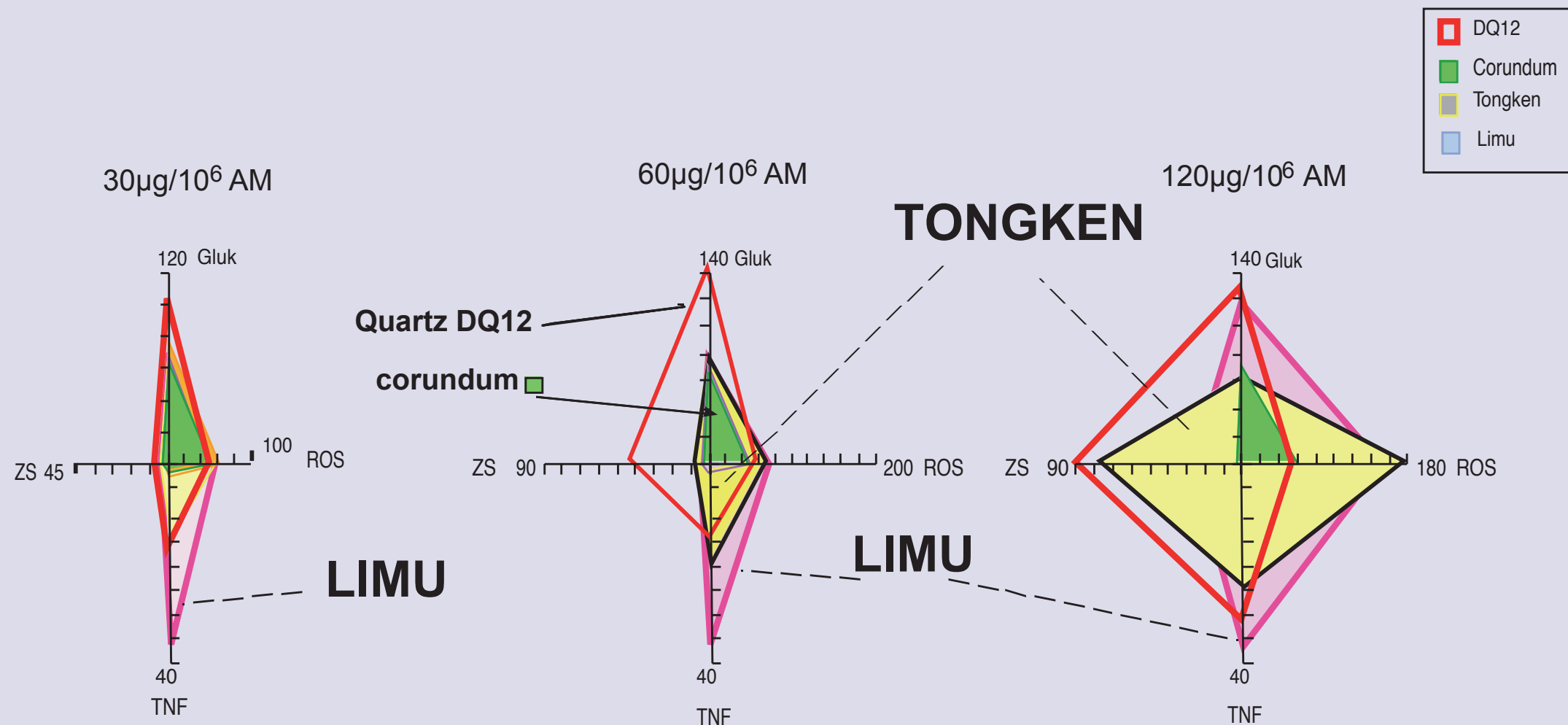
BMBF: NanoCare & NanoGEM
(2009 – 2014)

Testung im VM vier aus 16 Proben unterschiedlicher Lagerstätten der Europäischen Quarzindustrie (EUROSIL)



Links 2 Proben mit hoher biologischer Aktivität, re 2 Proben mit niedriger Aktivität. Sehr gute Übereinstimmung der Rangfolge und der Menge der Unterschiede im Tiertest unter Verwendung molekularer Endpunkte im bench mark dose (BMD) Test Modell. (Bruch et al 2004, Seiler et al. 2004)

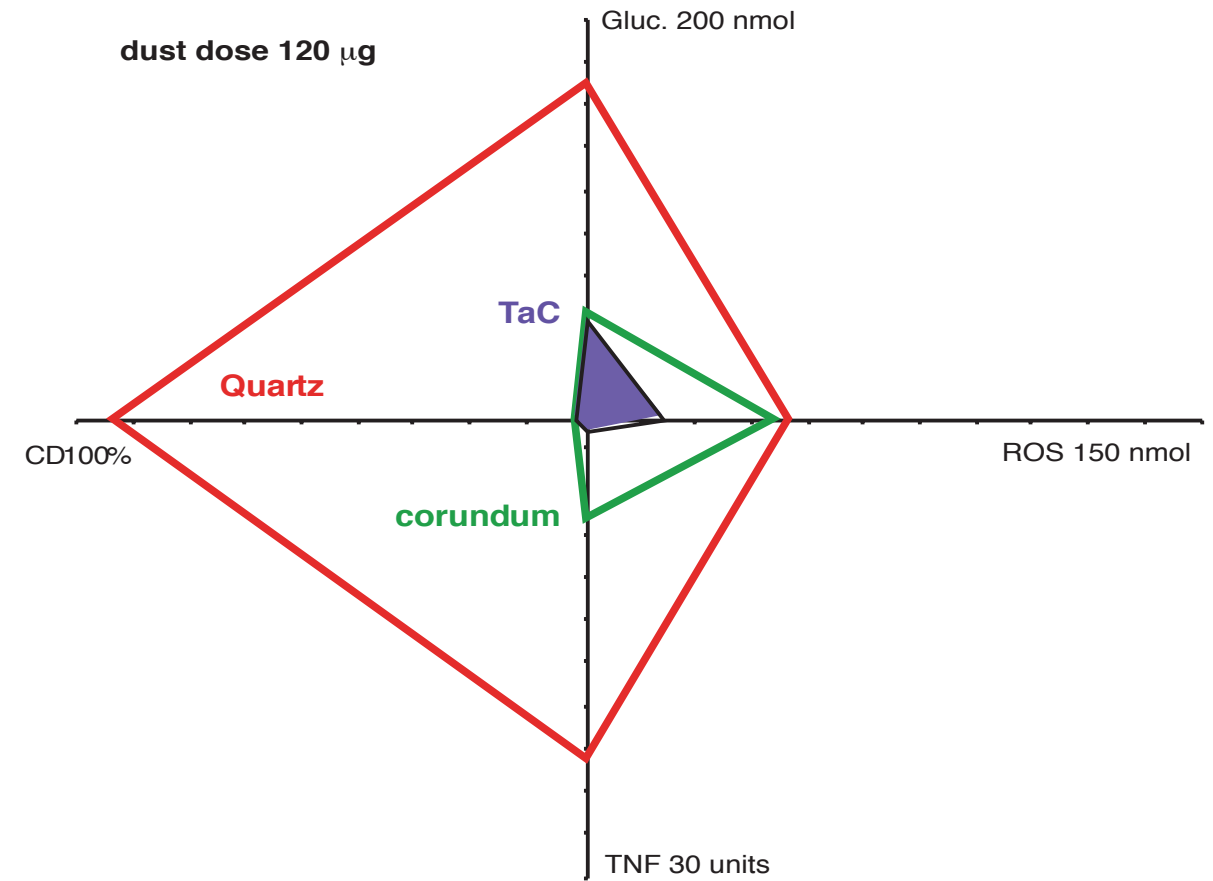
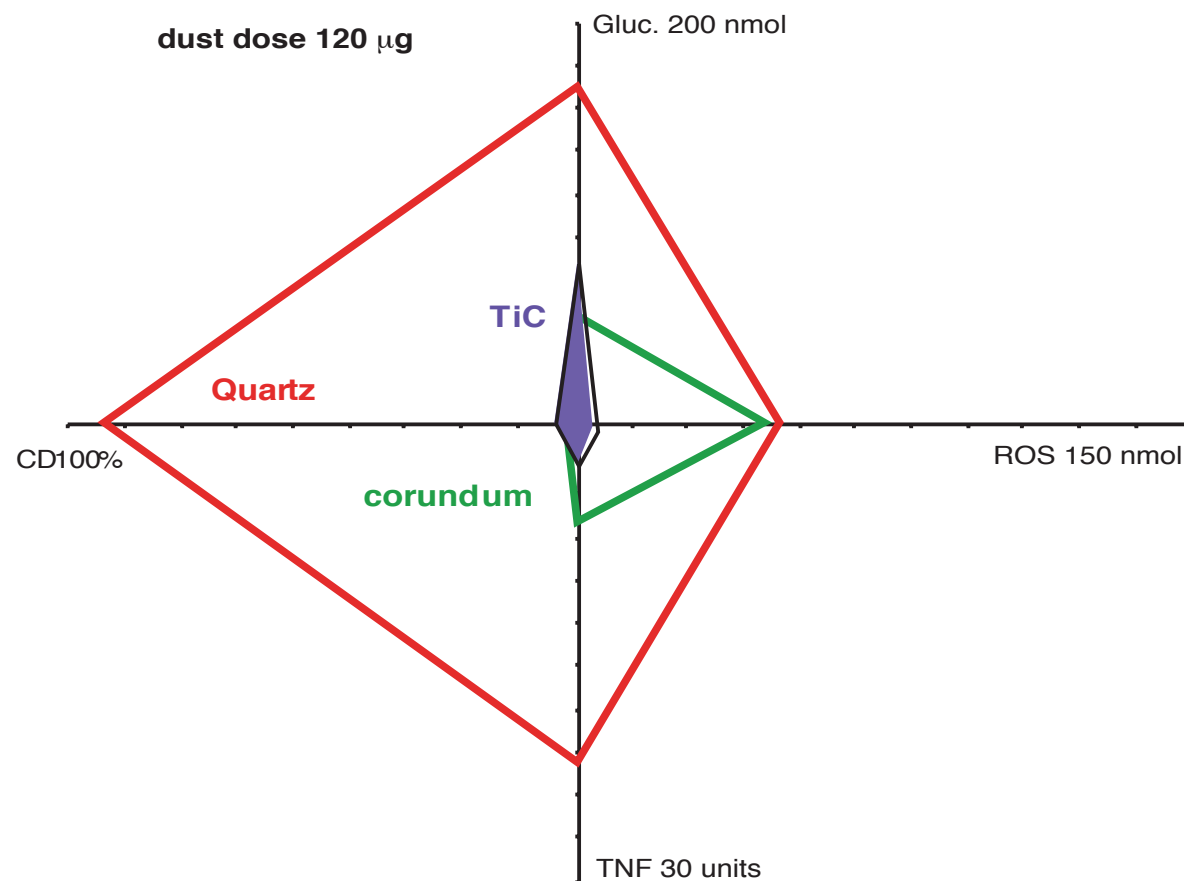
Vectorgrams of fine dusts from Tongken (15% silica) and Limu (12 % silica) Tin Mines; fine dust tested in three steps of dose doubling at AM in vitro



Extrem hohe biologische Aktivität von Staubproben aus zwei Zinnminen (Limu und Tongken) der Provinz Guanxi, PR China. Validierung durch den Nachweis von Ethenoaddukten im Nierigdosistiermodell (2014);

DFG Förderung. Z.T. veröffentlicht Promotion Chen, W. et al 2005. Kooperation mit Tongji Medical College H.U.S.T. Wuhan, PRC und National Institute of Occupational Health and Safety, NIOSH Morgantown, WV USA

Toxikologische Bewertung von nanoskaligen Pulvern der Sintertechnologie (HC Starck Säckingen)



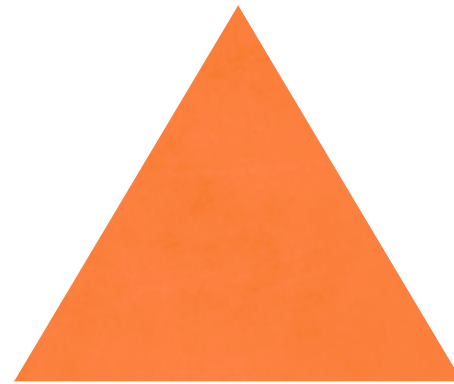
Sehr niedrige biologische Aktivität im Vektormodell für Tantalcarbid (TaC) und Titancarbid (TiC). Gute Übereinstimmung mit dem it-Rattentest (BAL: keine Granulozyten, keine TNF alpha Erhöhung; Bruch et al in press 2014)

Organigram of the particle risk assessment

human clinical and epidemiological assessment of risks with reference samples (quartz, carbon black, TiO₂ etc)

Vector Model

in vitro evaluation of particles on alveolar macrophages
- multi dose exposure -



Validation Scheme

Animal Model

in vivo evaluation of particles in rat lungs: BALs inflammation; molecular endpoint (etheno adducts, 8-oxoGua etc)
- multi dose exposure -

multi dose exposures in the low level exposure domain -> no adverse effect level & first manifestation dose of critical parameters

Transformation of the ZEDs of multi dose testing into toxicity ranks

In vitro vector model

Toxicity ranks derived from the zero equivalent dose (**ZED**)

data points (NOAEL -> LOAEL)

Vektor model Alv. Macrophages in vitro: $\mu\text{g dust}/10^6$ cells

VI	V	IV	III	II	I	O	Overload
0.19	0.375	0.75	15	30	60	120	160 - 240

Animal experiment

Toxicity ranks derived from the zero equivalent dose **ZED** data points (NOAEL -> LOAEL)

Dust dose per rat lung (mg/rat lung)

VI	V	IV	III	II	I	O	Overload
0.75	0.15	0.3	0.6	1.2	2.4	4.8	> 7 - 9

inert resp. toxic references

Validation of Toxicological Data in Using Toxicity Ranks

Comparison of in vitro and in vivo plus human data
Numbers represent toxicity ranks in the VM and ITI tests see Folie 39

Substance	In vitro VM	In vivo ITI	Human data	Remarks
NanoSinterCarbide Particles	0	0	-	Samples from HC Starck
TinMine Dusts	VI	VI*	+++++	High cancer risks
Quartz 1	IV	IV	+++ - +	Compatible with varying risk figures depending from work sites (IARC)
Quartz 2	II	II		
Quartz 3	IV	IV		
DMP	I – II	I – II Prominent short time effects	Short time effects are dominant **	Same ranking Short time effects;
NanoParticles Metal oxides, poorly soluble	1 – 3	1 - 3	-	Same tox. Ranking NanoCare

Legend: DMP diesel motor particles. „*” to be published. Brown boxes: in press. All other data are published in peer review journals. „**” see following slides

Wahrscheinlich eine der wichtigsten Publikationen zu Umweltfeinstäuben

Gardner et al. *Particle and Fibre Toxicology* 2014, **11**:1
<http://www.particleandfibretoxicology.com/content/11/1/1>



PARTICLE AND
FIBRE TOXICOLOGY

RESEARCH

Open Access

Ambient fine particulate air pollution triggers ST-elevation myocardial infarction, but not non-ST elevation myocardial infarction: a case-crossover study

Blake Gardner¹, Frederick Ling¹, Philip K Hopke², Mark W Frampton³, Mark J Utell³, Wojciech Zareba¹, Scott J Cameron¹, David Chalupa³, Cathleen Kane⁴, Suresh Kulandhaisamy¹, Michael C Topf¹ and David Q Rich^{4*}

Wahrscheinlich ein der wichtigsten Publikationen zu Umweltfeinstäuben

- Die Untersuchung am Menschen zeigt die Wirkung von ambient UFP:
 - tritt ein bei einer Belastung von einer Std. vor dem Infarktereignis
 - Ist am stärksten bei der Partikelfraktion $pm_{2.5}$, weniger bei *ultrafine particle (10-100 nm) number concentrations* und weniger bei *accumulation mode particle (100-500 nm) number concentrations in the previous few hours and days*.
- Meine Interpretation (JB) vor dem Hintergrund eigener Untersuchungen an DMP (in press):
 - *Die Partikelwirkung per se ist wegen der kurzen Latenzzeit von Exposition und Effekt unwahrscheinlich*
 - *In Verbindung mit unserer Untersuchung für den FAT/VDA kann ein relevanter Wirkungsmechanismus aus einer Wasser-löslichen Komponente unterstellt werden*
 - *Die Partikeleffekte von DMP variieren sehr stark von sonstigen Chemismen an der Oberfläche. Diese wiederum sind abhängig von den Betriebsbedingungen (Motoröl, Betriebsdruck etc)*

Beispiel wesentliche metallische Kontamination am Rußkern:
Cerium Oxide am Rußpartikel (überlassen von Andreas C.R. Mayer;
CH 5443 Niederrohrdorf/Schweiz / TTM Technik Thermische Maschinen

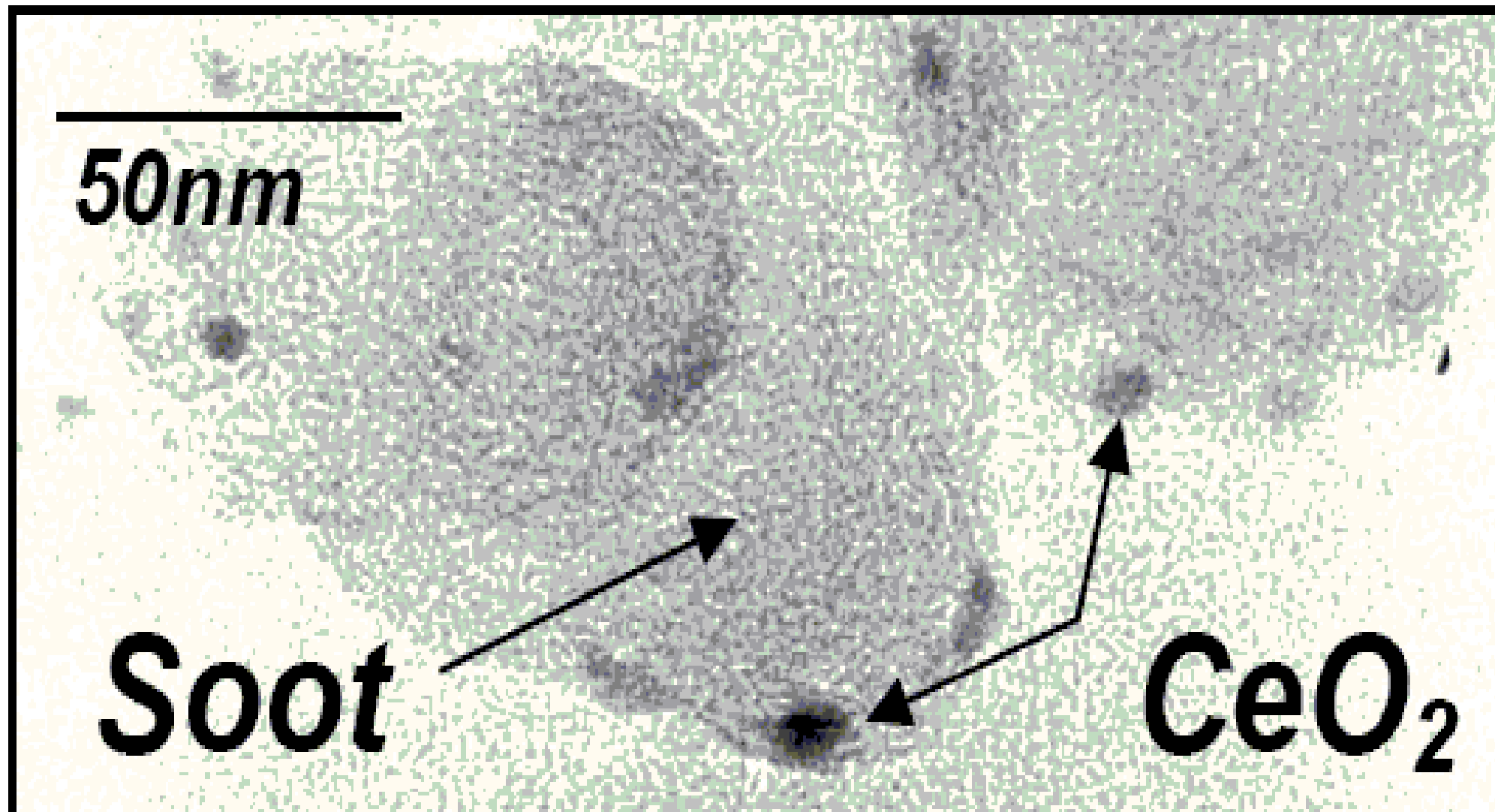


Fig.3: Cerium oxide FBC hooked on soot particles
[43]

Aktuelle eigene Untersuchungen an vier unterschiedlichen Proben an DMP

- Die Dieselmotorpartikel zeigen eine überraschend hohe akute Toxizität
- Die Merkmale dieser Akuttoxizität sind Beeinträchtigung der Blutluftschanke, hohe Protein und Fibronectinwerte in der BALF
- Dieser neue Wirkungsmechanismus von DMP weist in die gleiche Richtung wie die zuvor zitierte epidemiologische Studie
- Der neue Wirkungsmechanismus ist nicht unterscheidbar von dem Partikelmechanismus des Dieselschmutz-Kerns

Perspektiven für die Baumaschinenindustrie auf der Grundlage der dargestellten quantitativen Abschätzungen zur Partikelschädlichkeit (1)

Erkenntnisse zu unterschiedlichen Partikelwirkung

– Folgerungen zur hygienischen Bewertung von Arbeitsplätzen der Bauindustrie –

1. Schätzung der Gefährdung durch Partikelemission unterschiedlicher Quellen
2. Fokussierung auf die Minimierung der Emission besonderer, gefährlicher Komponenten

Perspektiven für die Baumaschinenindustrie auf der Grundlage der dargestellten quantitativen Abschätzungen zur Partikelschädlichkeit (2)

Schlussfolgerungen zu unterschiedlichen Partikelwirkung von DMP

Neubewertung der durch Dieselmotoremissionen hervorgehenden Risiken

1. realistische Darstellung der von den DMP ausgehenden Gefährdungen in Anlehnung an aktuelle Ergebnisse der Epidemiologie und der Toxikologie
2. Entwicklung von Verfahren zur Änderung des Motormanagement im Hinblick auf die Minimierung der besonderen adversen chemischen Komponenten in Übereinstimmung der unter 1 genannten Erkenntnisse

Das Potential der Minderung der leitenden Kurzzeiteffekte von DMP durch Änderung des Motorbetriebes sind sehr hoch. Validierte toxikologische Verfahren leisten für die technologischen Entwicklung die notwendigen Voraussetzungen.