

The MAK Collection for Occupational Health and Safety

Faserstäube, anorganisch

MAK-Begründung, Nachtrag

A. Hartwig^{1,*}, MAK Commission^{2,*}

¹ Vorsitz der Ständigen Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Institut für Angewandte Biowissenschaften, Abteilung Lebensmittelchemie und Toxikologie, Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Adenauerring 20a, Geb. 50.41, 76131 Karlsruhe

² Ständige Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Kennedyallee 40, 53175 Bonn

* E-Mail: A. Hartwig (andrea.hartwig@kit.edu), MAK Commission (arbeitsstoffkommission@dfg.de)

Keywords: Faserstäube, anorganisch; Wirkungsmechanismus; Toxizität; Kanzerogenität; Genotoxizität; Mesotheliom; Entzündung; Lunge; Clearance; Toxikokinetik

Citation Note: Hartwig A, MAK Commission. Faserstäube, anorganisch. MAK Begründung, Nachtrag. MAK Collect Occup Health Saf [Original-Ausgabe. Weinheim: Wiley-VCH; 2018 Jul;3(3):1360-1416]. Korrigierte Neuveröffentlichung ohne inhaltliche Bearbeitung. Düsseldorf: German Medical Science; 2026. https://doi.org/10.34865/mb0243fasd0065_w

Neuveröffentlichung (Online): 06 Mrz 2026

Vormals erschienen bei Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA; <https://doi.org/10.1002/3527600418.mb0243fasd0065>

Addendum abgeschlossen: 21 Jul 2016

Erstveröffentlichung (Online): 26 Jul 2018

Zur Vermeidung von Interessenkonflikten hat die Kommission *Regelungen und Maßnahmen* etabliert.



Dieses Werk ist lizenziert unter einer
Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz.

Fibrous Dusts, inorganic

[Faserstäube, anorganisch]

MAK Value Documentation in German language

A. Hartwig^{1,*}, MAK Commission^{2,*}

DOI: 10.1002/3527600418.mb0243fasd0065

Abstract

The German Commission for the Investigation of Health Hazards of Chemical Compounds in the Work Area has reevaluated the general aspects of the toxicity of inorganic fibrous dusts. As a first step a documentation on the effects caused by inhalation of inorganic fibrous dusts and the mode of action for their toxicity was set up. For the elucidation of the mechanism of the toxicity and carcinogenicity of fibers, data derived from studies with asbestos fibers were also considered, in order to obtain some knowledge with regard to the biological effects of the other inorganic fibrous dusts. The formation of tumors in the lungs and on serous membranes is mainly the result of inflammatory processes. Chronic inflammation and cell proliferation are caused by the impairment of fiber clearance, whereby inflammation-promoting cytokines, growth factors, reactive oxygen (ROS) and nitrogen species (RNS) and chlorine radicals are released from the macrophages, inflammatory cells, alveolar cells and mesothelial cells. The generation of these radicals leads to genotoxic effects. In addition intracellular formation of ROS and RNS can be caused by the fibers themselves, as a result of their own surface reactivity. Fibers can stimulate cell receptors and inflammasomes.

Each fiber dust group will be evaluated individually and, depending on the data available, may be classified in one of the categories for carcinogens. The Commission has already begun this procedure.

Keywords

Aluminiumoxid; Attapulgit; Calcium-Natrium-Metaphosphat; Calciumsulfat; Gips; Dawsonit; Erionit; Zeolith; Glasfasern; Halloysit; Kaliumtitanat; Kaliumtitanoxid; Keramikfasern; Künstliche Mineralfasern; Magnesium-Oxid-Sulfat; Nematolith; Brucit; Palygorskit; Schlackenwolle; Sepiolith; Siliciumcarbid; Steinwolle; Wollastonit; p-Aramid; Wirkungsmechanismus; Toxikokinetik; Metabolismus; Genotoxizität; krebserzeugende Wirkung; Arbeitsstoff; maximale Arbeitsplatzkonzentration; MAK-Wert; Toxizität; Gefahrstoff

Author Information

¹ Vorsitzende der Ständigen Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Institut für angewandte Biowissenschaften, Abteilung Lebensmittelchemie und Toxikologie, Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Adenauererring 20a, Geb. 50.41, 76131 Karlsruhe

² Ständige Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Kennedyallee 40, 53175 Bonn

*Email: A. Hartwig (andrea.hartwig@kit.edu), MAK Commission (arbeitsstoffkommission@dfg.de)

Faserstäube, anorganisch

Nachtrag 2017

Seit der Begründung von 1993 (Begründung „Faserstäube“ 1993) wurden neue Studien durchgeführt, deren Ergebnisse eine Neubewertung erforderlich machen. Zur Beschreibung des Mechanismus wurden zudem die MAK-Begründungen zu Asbest von 1973, 1978 und 1981 herangezogen (Begründung „Asbest-Feinstaub und asbesthaltiger Feinstaub“ 1973; Begründung „Asbest-Feinstaub und asbesthaltiger Feinstaub“ 1978; Begründung „Asbest-Feinstaub und asbesthaltiger Feinstaub“ 1981).

Die Begründung von Wollastonit wurde im Jahr 1996 (Begründung „Wollastonit“ 1996) aktualisiert. Die Gruppen der faserförmigen Stäube aus Glas- und Steinwolle sind inzwischen um zahlreiche Glas- und Steinwollarten mit geringerer Biobeständigkeit erweitert worden. Auch für einige natürliche faserförmige Minerale liegen neue Studien vor. Außerdem gibt es neue Erkenntnisse über die Wirkmechanismen von Faserstäuben.

In der vorliegenden Begründung sind zur Erläuterung spezieller biologischer Effekte auch Studien von faserförmigen Staubpartikeln mit nanoskaligem Durchmesser aufgeführt. Strukturbedingt können sich bestimmte Fasern wie Asbestfasern mit mikroskaligem Durchmesser in dünnere Fasern aufspalten. Daher werden auch mechanistische Befunde von Fasern mit nanoskaligem Durchmesser für die Bewertung mit herangezogen. Nanoskalig faserförmige Partikel erfordern möglicherweise eine gesonderte Bewertung.

Basierend auf dem derzeitigen Kenntnisstand wird in den folgenden Kapiteln der Wirkmechanismus von Fasern beschrieben, wobei die Erkenntnisse zu Asbest zusammen mit den Befunden zu den anderen Fasertypen vergleichend ausgewertet und dargelegt werden.

Allgemeines

Definition Faserstaub

Fasern sind elongierte Partikel mit unterschiedlichen Längen- zu Durchmesserverhältnissen. Die Faserstäube bestehen aus anorganischem oder organischem Material und werden sowohl aus natürlichen Lagerstätten als auch bei industriellen Herstellungs- und Bearbeitungsprozessen freigesetzt. Die Länge der Fasern, mehr aber noch deren Durchmesser, bestimmen die Einatembarkeit und somit die biologischen Effekte. Nach Timbrell (1972) beträgt der aerodynamische Durchmesser einer Faser (Länge > Durchmesser) etwa das Dreifache des Faserdurchmessers. Nach der internationalen Konvention, die aus der Analytik zur Bestimmung der Faseranzahlkonzentration abgeleitet wurde (WHO 1996), gelten Faserstäube beim Menschen als toxisch/lungenschädlich, wenn sie ein Länge-Durchmesser-Verhältnis von 3:1 überschreiten und gleichzeitig eine Länge von > 5 µm und einen Durchmesser

< 3 µm aufweisen. Fasern mit abweichendem Länge-Durchmesser-Verhältnis, insbesondere Fasern mit einer Länge ≤ 5 µm, werden durch die WHO-Definition nicht erfasst. Wichtig ist hierbei die Verteilung der Faserdurchmesser im exponierten Atembereich (Begründung „Asbest“ 1981; Begründung „Faserstäube“ 1993). Nähere Erläuterung des Zusammenhangs zwischen Faserlänge und der Faserwirkung sind im Kapitel 3.1 beschrieben.

Überblick über Fasern

Die bisherige Faserstaub-Begründung (Begründung „Faserstäube“ 1993) bezieht sich auf anorganische und organische Fasern mit Ausnahme von Asbest. Wegen der wirtschaftlichen Relevanz wurden überwiegend künstliche anorganische Fasern behandelt.

Seit Erstellung der Begründung im Jahr 1993 hat es in der Nomenklatur künstlich hergestellter anorganischer Fasern Änderungen gegeben. Inzwischen sind auch neue Produkte auf den Markt gekommen, die in der früheren Systematik noch nicht erfasst waren. Die im Folgenden aufgeführten Diagramme zur Fasersystematik (s. Abbildungen 1 bis 4) geben die aktuell verwendete Nomenklatur wieder (Fasersystematik nach AGS 2002 und DGUV 2014). Nicht alle der in der Fasersystematik aufgeführten Faserarten bilden alveolengängige Fasern.

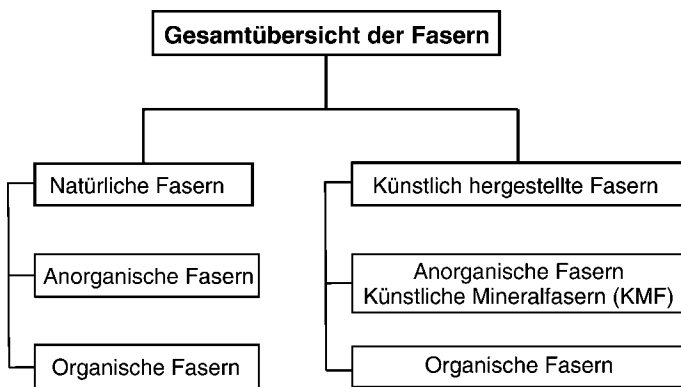


Abb. 1 Gesamtübersicht der Fasern (nach AGS 2002 und DGUV 2014)

Die organischen Fasern sind zur Vollständigkeit mit aufgelistet. Zu diesen Fasern liegen derzeit nur wenige Daten vor. Eine Überprüfung und Bewertung der Daten zu den organischen Fasern ist vorgesehen, erfolgt jedoch gesondert. Die Kommission hat mit Ausnahme von p-Aramid eine Einstufung der organischen Fasern vorläufig zurückgestellt.

Einzelne Begründungen der Faservariäten sind zu beachten.

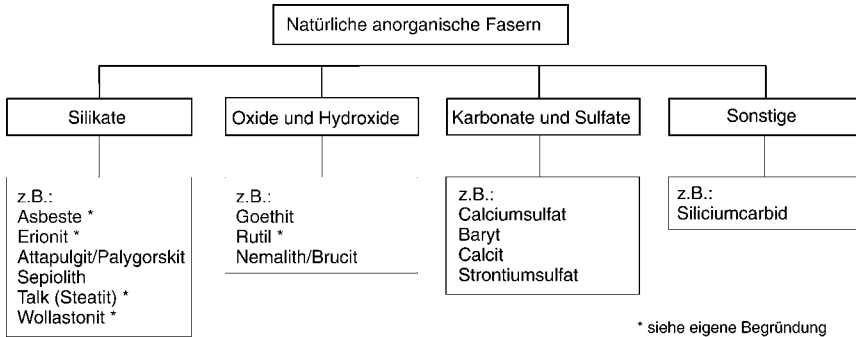


Abb. 2 Systematik der natürlichen anorganischen Fasern (nach AGS 2002 und DGUV 2014).

Ordnungszustände im Festkörper

Kristallin: Atome oder Moleküle sind in einer regelmäßigen Struktur (Kristallstruktur) angeordnet. In der Wechselwirkung mit dem Röntgenstrahl entsteht ein Beugungsmuster (Reflexe).

Polykristallin: Kristalliner Festkörper, der aus durch Korngrenzen abgegrenzten kristallinen Bereichen (Kristalliten) besteht. In der Wechselwirkung mit dem Röntgenstrahl entsteht ein Beugungsmuster (Reflexe).

Amorph: Ohne Kristallisation erstarrte (metastabile) beim Erwärmen allmählich erweichende unterkühlte Schmelze, deren Atome oder Moleküle eine Nahordnung, aber keine gerichtete Fernordnung (Kristall) besitzen. In der Wechselwirkung mit dem Röntgenstrahl entsteht kein Beugungsmuster (Reflexe).

Künstlich hergestellte anorganische Fasern

Textilglasfasern (Endlos-, Filamentfasern) und Kohlenstofffasern (Carbonfasern)

Textilglasfasern (s. Abbildung 3) und auch Carbonfasern (s. Abbildung 4) finden in der Industrie weite Verbreitung. In den meisten Fällen werden diese Fasern in Form von Verbundwerkstoffen (GFK: Glasfaser-verstärkte Kunststoffe; CFK: Carbonfaser-verstärkte Kunststoffe) eingesetzt. Der überwiegende Teil der Textilglasfasern wird mittels Düsenziehverfahren aus einer Schmelze gewonnen. Carbonfasern werden zumeist aus Polyacrylnitril nach Zwischenstufen durch Carbonisierung in einem Pyrolyseprozess hergestellt. Die bisher technisch relevanten Fasern haben einen gleichmäßigen Durchmesser, der bei 10 bis 25 µm (Textilglasfaser) bzw. 7 bis 9 µm (Carbonfaser) liegt. Dabei sind nur die Fasern mit einem Durchmesser von 7 bis 9 µm thoraxgängig, während andere in den oberen Luftwegen abgeschieden werden (Timbrell 1982). Bei der Verwendung bzw. mechanischen Bearbeitung von Fasern bzw. der Verbundwerkstoffe durch Bohren, Schneiden, Fräsen, Schleifen, Polieren etc. werden jedoch splitterförmige Fasern freigesetzt, die, wenn sie WHO-Abmessungen aufweisen, als alveolengängige Fasern zu bewerten sind.

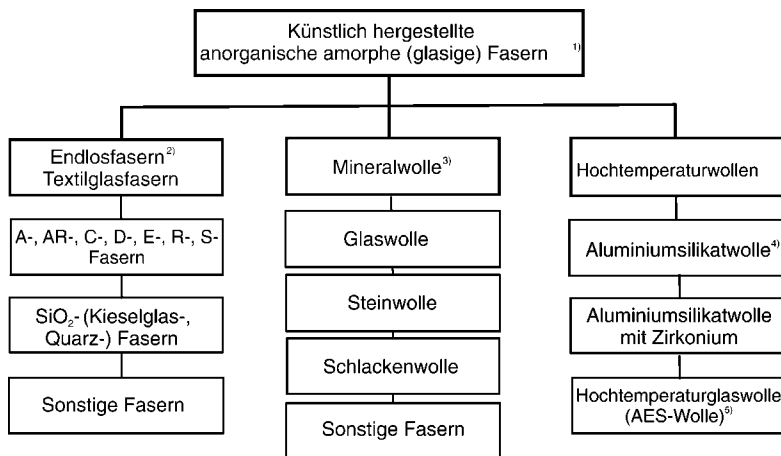


Abb. 3 Systematik der künstlich hergestellten anorganischen amorphen Fasern (nach AGS 2002 und DGUV 2014). Einzelne Begründungen der Faservarietäten sind zu beachten.

¹⁾ Zu den künstlich hergestellten anorganischen Fasern gehören auch Superfeinfasern (z. B. Mikrofasern, Hyperfeinfasern)

²⁾ Endlosfasern: Begriff bezieht sich auf den Herstellungsprozess. Hierzu gehören auch Kurz- und Stapelfasern (entstanden durch Zerhacken); weitere Bezeichnung: Filamentfasern; A-Glasfaser (A = *Acid Resistant*); AR-Glasfaser (AR = *Alkaline Resistant*); C-Glasfaser (C = *Chemical*): Faser mit erhöhter Chemikalienbeständigkeit; D-Glasfaser (D = *Dielectric*): Faser mit niedrigem dielektrischem Verlustfaktor; E-Glas (E = *Electric*), Standardfaser für die Kunststoffverstärkung; R-Glas (R = *Resistant*) und S-Glas (S = *Strength*): Faser mit erhöhter Festigkeit und Feuchtebeständigkeit

³⁾ Die Bezeichnung Wolle definiert eine ungeordnete Anhäufung von Fasern mit unterschiedlichen Längen und Durchmessern.

⁴⁾ Aluminiumsilikatwolle (ASW) wurde früher als Keramikfaser oder *Refractory Ceramic Fibres* (RCF) bezeichnet.

⁵⁾ AES: *Alkaline Earth Silikate* (Alkali-Erdalkali-Silikatwolle); zu den Hochtemperaturglaswollen gehören z. B. Magnesium-, Calcium-Magnesium-, Calcium-Magnesium-Zirkonium-Silikatwolle

Mineralwolle (Schlackenwollfasern, Glaswollfasern, Steinwollfasern)

Unter der Sammelbezeichnung Mineralwolle (s. Abbildung 3) werden Dämmstoffe aus künstlich hergestellten Stein- oder Glaswollen zusammengefasst. Mineralwolle besteht aus künstlichen Mineralfasern, bei denen es sich um ungerichtete glasige Fasern mit einem Massegehalt handelt, bezogen auf die Oxide von über 18 % an Natrium, Kalium, Calcium, Magnesium und Barium (AGS 2002, 2008). Zwischen den Jahren 1996 und 2000 wurde die chemische Zusammensetzung aufgrund von Änderungen im Regelwerk des Arbeitsschutzes geändert. Die bis dahin verwendeten Mineralwollen dürfen nicht mehr eingesetzt werden und werden im Allgemeinen als sog. „Alte Mineralwollen“ bezeichnet. Eine detaillierte Bewertung verschie-

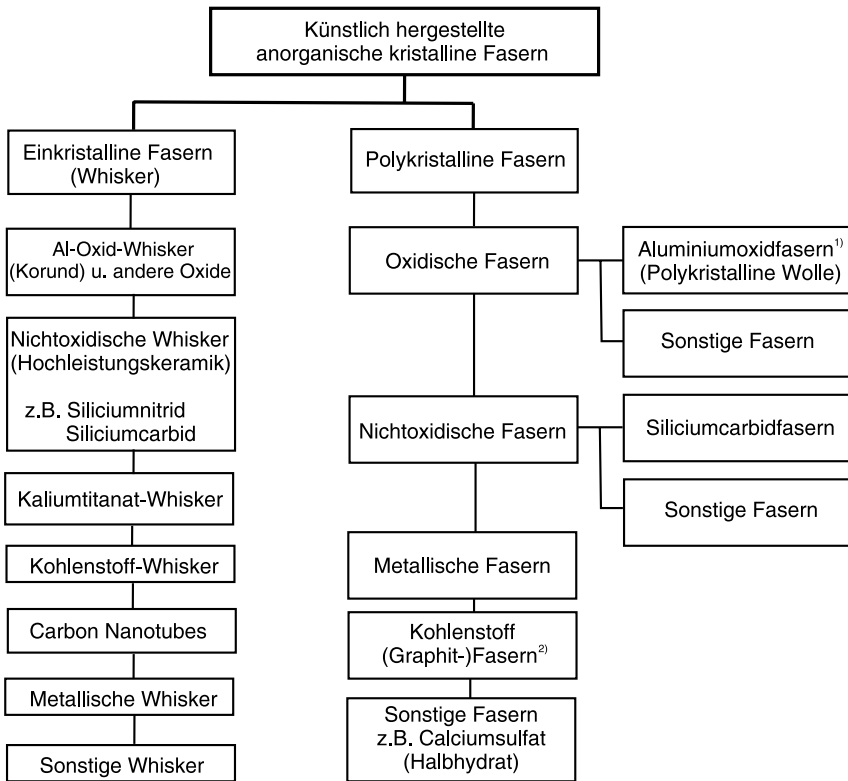


Abb. 4 Systematik der künstlich hergestellten anorganischen kristallinen Fasern (nach AGS 2002 und DGUV 2014). Einzelne Begründungen der Faservarietäten sind zu beachten.

¹⁾ gehören auch zur Gruppe der Hochtemperaturwollen

²⁾ gehören auch zur Gruppe der Endlofasern

dener Arten künstlicher Mineralfasern findet sich z. B. in IARC (2002). Daten zur Exposition bei der Verwendung von Dämmwollen finden sich in AGS (2008).

Hochtemperaturwollen

Neben den in der Vergangenheit überwiegend eingesetzten sog. Keramikfasern (*Refractory Ceramic Fibers*, RCF), die heute als Aluminiumsilikatfasern (s. Abbildung 3) bezeichnet werden, finden seit Jahren eine Vielzahl unterschiedlicher Faserprodukte Anwendung, die als Hochtemperaturwollen zusammengefasst werden. Hierzu zählen im Wesentlichen die polykristallinen Fasern (eine typische Variante sind Aluminiumoxidwollen) und die Hochtemperaturglasfasern (AES-Wollen). Bei den Aluminiumoxidwollen kann zwischen dem Korund-Typ (ca. 98 % Al_2O_3 , 2 % SiO_2) und

dem Mullit-Typ (ca. 72 % Al_2O_3 , 28 % SiO_2) unterschieden werden. Hochtemperaturglasfasern sind als Substitute für bestimmte Anwendungen von Aluminiumsilikatfasern entwickelt worden. Die Nomenklatur der Hochtemperaturwollen ist in DIN EN 1094-1 (2008) festgelegt und in die Abbildungen 3 und 4 zur Fasersystematik integriert. Expositionsdaten bei der Herstellung und Verwendung von Hochtemperaturwollen finden sich z. B. in AGS (2010).

Siliciumcarbid

Die Siliziumcarbidfasern (s. Abbildung 3 und 4) kommen an verschiedenen Arbeitsplätzen auch als splitterförmige Fasern vor. Neben den technisch hergestellten Siliciumcarbid-Whiskern (SiC-Whisker) können auch durch mechanische Bearbeitung (Zerkleinerung) bzw. bei der Nutzung von körnigem SiC splitterförmige Fasern entstehen, die als alveolengängige Fasern zu bewerten sind, da ihre Partikelform den WHO-Abmessungen entspricht. Eine Exposition gegenüber splitterförmigen SiC-Fasern ist vor allem bei der Herstellung verschiedener Körnungen von Schleif- oder Abrasivmitteln und bei deren Einsatz zu erwarten.

1 Allgemeiner Wirkungscharakter

Inhalation und orale Aufnahme stellen die primären Aufnahmewege bei einer Exposition gegen Fasern dar. Die dermale Aufnahme ist vernachlässigbar gering. Staubablagerungen auf der Haut können jedoch zu einer erhöhten inhalativen oder oralen Aufnahme von Fasern führen. Aufnahmemenge und Eindringtiefe der Fasern in die Lunge sind abhängig von der Länge und in erster Linie vom Faserdurchmesser, wobei dünne Fasern mit Durchmessern $< 3 \mu\text{m}$ bis in den Alveolarraum gelangen können.

Die epidemiologische Datenlage ist für anorganische Faserstäube (ausgenommen Asbest und Erionit) nicht ausreichend für eine Bewertung ihrer Toxizität. Aus den Erfahrungen von Asbest-Expositionen und deren Folgen ist bekannt, dass als Zielorgane maligner Entartung beim Menschen die Lunge, der Kehlkopf, die Pleura sowie in einigen Fällen das Peritoneum und das Perikard gelten. Zudem ist das Auftreten der Erkrankungen von der Dauer und Intensität der beruflichen Exposition, der persönlichen Disposition und der Latenzzeit (Fibrose: 15–20 Jahre; Tumor: 25–50 Jahre) abhängig. Eine hinreichend gesicherte Bewertung, insbesondere der krebserzeugenden Wirkung anderer anorganischer Faserstäube als Asbest ist derzeit nicht möglich. Gründe sind beispielsweise ihr noch nicht langer Gebrauch im Vergleich zur langen Latenzzeit der Tumorentwicklung beim Menschen, die geringere Dosis im Vergleich zu Asbest-Expositionen, die geringere Anzahl an Exponierten oder auch konkurrierende Tumorausachen.

Nach Exposition gegen Aluminiumsilikatfasern wurden beim Menschen nicht-maligne pleurale Veränderungen wie Pleuraplaques, bindegewebige, z. T. auch verkalkte Verdickungen der Pleuramembran, beobachtet.

Aus tierexperimentellen und In-vitro-Studien geht ein breites Spektrum an potenziell gesundheitsgefährdenden Eigenschaften nach einer Faserexposition in Abhängigkeit von den Fasercharakteristika hervor. Nach der inhalativen Aufnahme

können einige Fasern nur sehr langsam durch die Clearance aus den Atemwegen entfernt werden. Eine lange Clearance-Halbwertszeit und eine wiederholte Aufnahme von persistenten Fasern können zu einer chronischen Reaktion der Respirationswege und des Lungengewebes und schließlich zu Fibrosen und Tumoren (Lungenkrebs, Mesotheliom) führen. Verschiedene Fasern, wie Siliciumcarbid-Fasern, Aluminiumsilikatfasern (RCF) und persistente Spezialglasfasern (Special Purpose Fibres), induzieren hauptsächlich bei Ratten und Hamstern (Exposition: inhalativ, intratracheal, intraperitoneal, intrapleurale) Entzündungsreaktionen, Fibrosen des Lungenparenchyms, pleurale Läsionen sowie Tumorbildung, insbesondere Lungentumoren und Mesotheliome. Schlacken- und Steinwollfasern sowie biolösliche Glasfasern bewirken keine vergleichbaren kanzerogenen Effekte, sondern lediglich entzündliche Veränderungen.

Eine Exposition gegen Siliciumcarbid-Whisker hat Pneumokoniosen mit nodulären Veränderungen in der Lunge, wie bei der Silikose, zur Folge, wobei eine Koexposition gegen granuläre Siliciumcarbid-Partikel nicht auszuschließen ist. Weitere Gesundheitsstörungen, die als Folge einer Exposition gegen Aluminiumsilikatfasern (RCF) oder Siliciumcarbid-Whisker berichtet werden, sind Reizungen der Atemwege, u. a. mit Dyspnoe und Bronchialobstruktion (Asthma, chronische Bronchitis, Emphysem), sowie Reizungen der Augen und der Haut.

2 Wirkungsmechanismus von Fasern

Fasern, die in die Lunge gelangt sind, können über die mukoziliäre Clearance in der Trachea und den Bronchien und über die Makrophagen-bedingte Clearance in den kleineren Bronchioli und den Alveolen eliminiert werden, wobei hier die Makrophagen die Fremdkörper aufnehmen und mittels amöboider Bewegungen zum mukoziliären Förderband transportieren. Da lange Fasern erst zerkleinert werden müssen, ehe sie phagozytiert werden können, haben persistente lange Fasern eine längere Aufenthaltsdauer in der Lunge. Die lokale Dosis ist somit deutlich höher als bei kurzen Fasern. Die stärkere Lungenbelastung führt zur Einwanderung von Monozyten aus dem Blutkreislauf in das Lungengewebe, die dort zu Phagozyten differenzieren und die lokalen Makrophagen bei ihrer Reinigungsfunktion unterstützen. Die damit einhergehende Freisetzung von Entzündungsmediatoren durch die Phagozyten und Mobilisierung weiterer Entzündungszellen – insbesondere von neutrophilen Granulozyten – führen letztlich zur Bildung von Hypochlorit (HOCl), reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) und reaktiven Stickstoffspezies (RNS) und zu einer entzündlichen Schädigung des Gewebes in den überlasteten Lungenarealen. Die granulozytäre Infiltration des entzündeten Lungenareals ist ein zentrales Merkmal des Übergangs von der noch physiologischen Belastung zum pathologischen Zustand der Entzündung. Diese bildet auch einen Proliferationsreiz für TYP-II-Alveolarepithelzellen, aus denen sich Lungentumoren entwickeln können.

Das Reinigungssystem der Lunge stößt jedoch aufgrund der besonderen Dimension von Fasern an die Grenzen seiner Funktionsfähigkeit, infolgedessen werden sowohl quantitativ als auch qualitativ zusätzliche Pathomechanismen einbezogen:

- Fasern können bei der Einatmung im stärkeren Maße als granuläre Partikel im Respirationstrakt abgeschieden werden, da Fasern vermehrt an den Oberflächen der Atemwege haften bleiben (Interzeption).
- Das mukoziliäre Förderband kann Fasern wegen der langgestreckten Form im Vergleich zu granulären Partikeln schlechter abtransportieren. Lange Fasern, deren Länge den Phagozytendurchmesser überschreitet, können nicht von diesen aufgenommen und abtransportiert werden. Diese Fasern müssen erst mechanisch oder durch den Einfluss des sie umgebenden Milieus zerteilt werden, um anschließend von den Phagozyten inkorporiert zu werden. Die mechanische Stabilität und die Biobeständigkeit von Fasern spielen dabei eine große Rolle. Eine diesbezügliche Besonderheit von Asbestfasern ist ihre Neigung, sich bei mechanischer Beanspruchung nicht durch Querbruch, sondern in Längsrichtung aufzuspalten.

Im Unterschied zu granulären Partikeln setzt bei Fasern die Überlastung der Makrophagen nicht erst mit einer Volumenüberladung ein. Lange und dünne Fasern, die nicht in Gänze inkorporiert werden können, bewirken eine „frustrane Phagozytose“, bei der u. a. eine Aufreihung der Makrophagen an der Faser und ein vermehrter Zelluntergang beobachtet wurden (Dörger et al. 2000, 2001; Hamilton et al. 2009; Ji et al. 2012; Murphy et al. 2012, 2013; Poland et al. 2008; Ye et al. 1999, 2001). Weitere pathophysiologische Effekte sind:

- Rigide und biobeständige Fasern können Makrophagen und Epithelzellen mechanisch schädigen und dadurch einen vermehrten Zelluntergang und einen Proliferationsreiz für die Epithelzellen bewirken.
- Für Asbestfasern wurden in vitro eine mechanische Interaktion mit dem mitotischen Spindelapparat und eine Interferenz mit Chromosomen beschrieben. Die Bedeutung dieses Phänomens für die Kanzerogenese ist noch unklar.
- Fasern durchbrechen die Barriere der Epithelzellen und dringen in das Lungeninterstitium ein, wo sie durch fibrogene Mediatoren fibrotische Prozesse anregen.
- Bedingt durch ihre Rigidität und die Beeinträchtigung der Clearance können persistente Faservarietäten nach inhalativer Aufnahme durch eine Translokation nicht nur in das interstitielle Lungengewebe gelangen, sondern sogar in den Pleuraspalt sowie, jedoch seltener, ins Perikard und Peritoneum.

Klinische Spätfolgen, der durch Fasern hervorgerufenen pathologischen Veränderungen, sind chronische Entzündungen der Atemwege und der Lunge, Lungenfibrose oder Lungenkrebs. Eine Besonderheit, die bislang nur für manche faserförmige, aber nicht für granuläre Partikel nachgewiesen wurde, ist die Verursachung charakteristischer hyaliner und zum Teil verkalkter Verdickungen der Pleurawand, Pleuraplaques sowie von mesenchymalen Tumoren (Mesotheliomen) seröser Häute, der Pleura, des Perikards und des Peritoneums.

Die dominierenden pathogenen Mechanismen sind nach heutiger Erkenntnis chronische Entzündungsvorgänge, die in erster Linie durch „3 D: Dose, Durability, Dimension“, also die Inhalationsdosis und die lokale Dosis, die Biobeständigkeit und die Fasermaße (Länge, Durchmesser) determiniert werden. Als weitere Einflussfaktoren spielen die chemische Oberflächenbeschaffenheit der Faser sowie deren Rigi-

dität und Geradlinigkeit eine Rolle. Die Faserzahl wird als das geeignete Expositionsmaß angesehen. Hier besteht ein Unterschied zu dem üblicherweise in der Toxikologie verwendeten Dosisbegriff, der auf die Masse bezogen ist.

Eine gleichzeitige Exposition von Fasern und Partikeln kann zu Kombinationseffekten führen. Granuläre biobeständige Partikel können ebenfalls die Clearance hemmen und zu chronischen Entzündungen, Fibrosen und Lungentumoren führen. Die zusätzliche Anwesenheit von Fasern in der Lunge, welche aufgrund ihrer Länge und potenziellen Biopersistenz schwer abtransportiert werden können, verstärkt diese Wirkung (IARC 2002, 2009; NTP 2010, 2016).

2.1 Nichtmaligne Faser-induzierte Erkrankungen

Faserinduzierte nichtmaligne Erkrankungen betreffen das Lungeninterstitium und die Pleura. Bei der Pleura richten sich die toxikologischen Untersuchungen auf die Translokation und Retention von Fasern im Pleuraraum, während bei der Lungenfibrose generelle Aspekte der Fibrogenese bzw. die Beschreibung der zellulären und molekularen Mechanismen im Vordergrund stehen. Im Folgenden werden die wesentlichen Erkenntnisse zusammengefasst.

2.1.1 Lungenfibrose

Lungenfibrose ist ein bindegewebig-narbiger Umbau des Lungengerüsts mit einer Vermehrung des Kollagens in den Alveolarsepten, was zu einer Reduzierung der Elastizität führt. Sie wird als Endzustand der chronisch-entzündlichen interstitiellen Lungenkrankheit angesehen (Pschyrembel 2013). Bestimmte Lungenfibrosen (Pneumokoniosen) entstehen infolge einer chronischen Belastung der Lungen und der Überlastung der Clearancemechanismen nach Exposition gegen biopersistente Partikel und Fasern, benachbarte Gewebezellen, wie Alveolarepithelzellen, werden geschädigt sowie durch Bindegewebe ersetzt.

Befunde zu Asbest- und Erionitfasern

Die Asbestose ist definiert als bilaterale diffuse interstitielle Lungenfibrose. Auch Erionit verursacht Lungenfibrose (Baris et al. 1987; Kliment et al. 2009). Da die Asbestose sehr langsam und zumeist nur bei hohen Expositionen auftritt (5–20-fach höhere (Amphibol-)Faserzahlen in der Lunge im Vergleich zu asbestassoziierten Pleuraveränderungen), ist von einer Dosis-Wirkungsbeziehung auszugehen (Mossman und Churg 1998). Aus vielen Studien zum komplexen fibrogenen Mechanismus geht hervor, dass viele verschiedene Zelltypen sowie eine persistierende Entzündung beteiligt sind, die die Bildung von ROS, Wachstumsfaktoren, Chemo- und Zytokinen umfasst. Zudem werden eine Vielzahl von Signalkaskaden unter Einbeziehung von Mitogen-aktivierten Proteinkinasen (MAPK) und dem Transkriptionsfaktor NF- κ B ausgelöst, Transkriptionsfaktoren wie NF- κ B und Aktivatorprotein 1 (AP-1) aktiviert und dadurch Gene hochreguliert, die die Proliferation, Apoptose und Entzündung in der Lunge steuern (Übersichten von Mossman und Churg 1998; Robledo und Mossman 1999; Rosenbloom et al. 2010).

Befunde zu anderen Mineralfasern

In verschiedenen Untersuchungen wurde von einer fibrosierenden Wirkung durch Siliciumcarbidfasern beim Menschen berichtet. So wurden in einer mikroskopischen Untersuchung von Geweben dreier Siliciumcarbid-exponierter Arbeiter u. a. eine noduläre Fibrose mit Siliciumcarbidkörpern und „ferruginous bodies“ und großen Mengen von kohlenstoffhaltigen Pigmenten sowie eine interstitielle Fibrose diagnostiziert (Massé et al. 1988). In einer Kohortenstudie von Siliciumcarbid-Hüttenwerkarbeitern wurden signifikant erhöhte standardisierte Mortalitätsquotienten für Pneumokoniosen berechnet (Romundstad et al. 2001). Die Autoren vermuten, dass die langjährige Exposition gegen Siliciumcarbid-Fasern und kristallines Siliciumcarbid zu den Pneumokoniose-Erkrankungen führten. In einer Studie mit Lungengewebe von 15 Arbeitern (post mortem), die 23 bis 32 Jahre in der Siliciumcarbid-Industrie beschäftigt waren, wurden in sechs Fällen Lungenfibrosen und in vier weiteren Fällen neben der Lungenfibrose auch Lungenkrebs diagnostiziert (Dufresne et al. 1995). Darüber hinaus wurden im Lungengewebe eines Siliciumcarbidfabrik-Arbeiters (Beschäftigungsdauer 42 Jahre), der an SiC-Pneumokoniose erkrankt war, neben SiC-Partikeln eine hohe Anzahl an SiC-Fasern (Länge > 5 µm; 39 300 Fasern/mg trockenes Gewebe) festgestellt (Dufresne et al. 1993).

In einer Fallstudie wurde über einen 41-jährigen Mann berichtet, bei dem eine interstitielle Fibrose diagnostiziert worden war. Im Lungengewebe wurden Partikel und Fasern gefunden. Die Fasern wurden chemisch analysiert und als Glaswollfasern identifiziert. Der Mann war langjährig gegen Glaswollfasern exponiert (Guber et al. 2006).

Zur fibrosierenden Wirkung beim Menschen durch andere Mineralfasern, wie Schlacken und Steinwollfasern sowie Aluminiumsilikatfasern (RCF) liegen keine belastbaren positiven, sondern mehrheitlich negative Befunde vor. Dagegen existieren verschiedene tierexperimentelle Studien, in denen eine Exposition gegen diese Fasern zu Lungenfibrosen führte (IARC 2002; Montelius 2005; NTP 2010; EU 2011).

2.1.2 Pleurafibrose

Es werden umschriebene Pleurafibrosen (Pleuraplaques) von diffusen Pleurafibrosen (diffuse Pleuraverdickung) unterschieden. Die Pleurafibrose ähnelt grundsätzlich einer Fibrose in anderen Organen und kann als überschießende Deposition von Matrixkomponenten definiert werden. Merkmale dieser Pleuraveränderungen sind Entzündung und ein gestörter Fibrinmetabolismus, der den fibrotischen Prozess aufrechterhält. Es wird angenommen, dass die komplexe Interaktion von subpleuralen Fibroblasten, Mesothelzellen und Entzündungszellen sowie die damit einhergehende Freisetzung von profibrotischen Mediatoren, Gerinnungsfaktoren und Fibrin zur Bildung von Fibrinogen beim Fibrosierungsprozess beitragen. Neben Zytokinen und Wachstumsfaktoren spielen auch reaktive Sauerstoffspezies bei der Faser-induzierten Fibrogenese eine Rolle (Huggins und Sahn 2004).

Diffuse Pleurafibrose

Diese Art der Pleurafibrose wird als Ergebnis Asbest-induzierter benigner Pleuraergüsse interpretiert. Die diffuse Pleurafibrose ist eine Pleuraverdickung aus kollagenem Bindegewebe, die unterschiedliche Ausmaße, bis hin zur Bedeckung der gesamten Lunge, annehmen kann (Greillier und Astoul 2008). Diffuse Pleuraveränderungen sind seltener als Pleuraplaques, meist unilateral, verkalken selten und können im Gegensatz zu Pleuraplaques die Interlobärspalten betreffen (Übersicht bei Greillier und Astoul 2008; Fletcher und Edge 1970). Bei den diffusen Pleuraveränderungen kommt es zum Verkleben der parietalen und viszeralen Pleura mit der Folge von Funktionseinschränkungen.

Umschriebene Pleurafibrosen (Pleuraplaques)

Bei dieser Art der Pleurafibrose ist die parietale Pleura betroffen. Hierbei handelt es sich um Verdickungen der parietalen Pleura durch kollagenreiches Bindegewebe, die im Laufe der Jahre verkalken können. Sie weisen eine fibröse Struktur sowie eine begrenzte zellulär-fibroblastische Aktivität auf. Pleuraplaques treten fast ausschließlich bilateral als lokalisierte hyaline Fibroseläsionen auf, wobei die Plaques aus azellulären Kollagenbündeln in einer welligen, korbgeflechtartigen Form bestehen. Die Latenzzeit nach einer Asbest-Exposition beträgt meist 20 bis 30 Jahre (Greillier und Astoul 2008). Pleuraplaques sind in der Regel ohne funktionelle Relevanz (Pairot et al. 2013, 2014) und gelten als Marker für eine Faserexposition.

Befunde zu Asbest- und Erionitfasern

Fasern wie Erionit, Amphibol- und Serpentin asbestos können zu Pleuraplaques führen. Bei Exponierten wurden Pleuraplaques in bis zu 60 % der Personen nachgewiesen, während sie in Ländern ohne natürliche Asbestexposition in der Allgemeinbevölkerung sehr selten sind (Pairot et al. 2013).

Einige Autoren (Harber et al. 1987; Weiss 1993) schlussfolgern in ihren Studien, dass Pleurafibrosen einen Expositionsmarker für Faserexpositionen darstellen. In prospektiven Untersuchungen findet sich auch bei Adjustierung für die kumulative Asbestexposition ein Zusammenhang von Pleuraplaques mit einem Bronchialkarzinom (Pairot et al. 2014) und von Pleuraplaques mit einem Pleuramesotheliom (Pairot et al. 2013). Diesen Studienergebnissen zufolge stellen die Pleuraplaques nicht lediglich einen Expositionsmarker dar, sondern vielmehr einen unabhängigen Risikofaktor für maligne faserinduzierte Endpunkte. In einem Übersichtsartikel wird auf die Schwierigkeit der Bestimmung der Exposition gegen Fasern hingewiesen und weiterhin davon ausgegangen, dass Pleuraplaques vorwiegend einen Expositionsmarker darstellen (Maxim et al. 2015). Insofern ist die Frage, ob Pleuraplaques einen unabhängigen Risikofaktor für maligne Erkrankungen darstellen, bislang nicht eindeutig zu beantworten.

Befunde zu anderen Mineralfasern

Aluminiumsilikatfasern (RCF) bewirken ebenfalls, analog zu Asbest- und Erionitfasern (Gräsel et al. 2008; IARC 2009; Selçuk et al. 1992) und im Unterschied zu den anderen Faserarten, Pleuraplaques beim Menschen (ATSDR 2004; IARC 2002;

Lemasters et al. 1994; Lockey et al. 1996, 2002, 2012; NIOSH 2006, 2011; Trethowan et al. 1995; Utell und Maxim 2010). In den Studien von Lockey et al. (2002), Lentz et al. (2003) sowie Lockey et al. (2012) wird ein signifikanter Zusammenhang der Pleuraplaques mit ansteigender RCF-Exposition aufgezeigt. Darüber hinaus wird dieser Zusammenhang für die Kategorien kumulative Exposition, kumulative pulmonale Dosis aller Fasern und kumulative pulmonale Dosis der Fasern mit einem Durchmesser $< 0,4 \mu\text{m}$ und einer Länge $< 10 \mu\text{m}$ (nach den Autoren wandern Fasern dieser Größe zur parietalen Pleura) spezifiziert (Lentz et al. 2003). In einer Follow-up-Studie wird berichtet, dass noch 13 bis 20 Jahre nach einer RCF-Exposition in den Lungengeweben der exponierten Arbeiter Fasern gefunden werden. Zudem korreliert die Zeitspanne (Beginn der RCF-Exposition bis zur Untersuchung) signifikant mit dem Auftreten der pleuralen Veränderungen (OR: 10,4; 95 % KI 3,0–36,3 und OR: 10,8; 95 % KI 2,4–47,9) für Arbeiter mit > 20 -jähriger Beschäftigungsdauer oder > 20 Jahren Latenzzeit) (Lockey et al. 2012).

Es ist festzuhalten, dass erst mit der sensitiveren Methode der hochauflösenden Computertomographie (HRCT) Pleuraplaques häufiger erkannt werden (Fireman 2014), weshalb die epidemiologische Evidenz vor den 1990er Jahren relativ gering war.

2.2 Maligne Faser-induzierte Erkrankungen

2.2.1 Lungenkarzinome

Der Asbest-induzierte Lungenkrebs tritt in denselben histologisch definierten Hauptklassen auf, d. h. als epitheliale, adenomatöse, großzellige, kleinzellige, sarkomatoide und adenosquamöse Tumoren, die auch bei nicht gegen Asbest-Exponierten beobachtet werden (Oksa et al. 2014).

Befunde zu Asbest- und Erionitfasern

Epidemiologische Untersuchungen zeigen, dass sowohl Asbestfasern als auch Erionitfasern Lungentumoren induzieren können. Die beim Menschen beobachtete krebs-erzeugende Wirkung von Asbestfasern und Erionitfasern wird in Tierversuchen übereinstimmend nach inhalativer, intrapleuraler und intraperitonealer Applikation bestätigt (Begründung „Asbest-Feinstaub und asbesthaltiger Feinstaub“ 1973; Begründung „Asbest-Feinstaub und asbesthaltiger Feinstaub“ 1978; Begründung „Asbest-Feinstaub und asbesthaltiger Feinstaub“ 1981; Begründung „Faserstäube“ 1993; IARC 2009).

Befunde zu anderen Mineralfasern

In mehreren Tierversuchen ist gezeigt worden, dass bestimmte Typen von künstlichen Mineralfasern nach intratrachealer, intraperitonealer und intrapleuraler Verabreichung bei Nagern Lungentumoren verursachen können (Begründung „Faserstäube“ 1993; IARC 2002; NTP 2010, 2016; s. auch Einzelbewertung der Fasern).

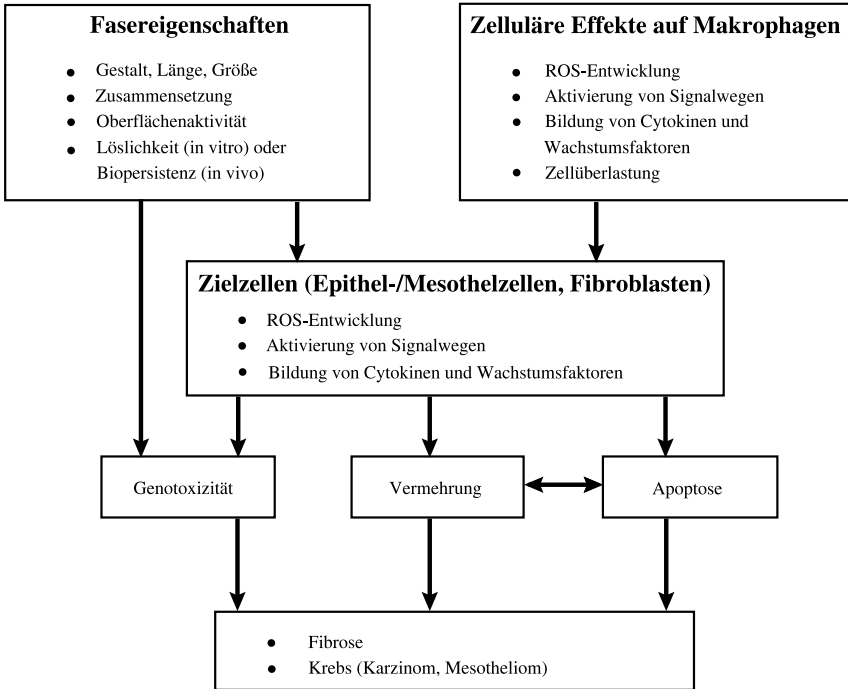


Abb. 5 Mechanismus der Fasertoxizität (modifiziert nach Ngueta 2008 aus NTP 2010)

2.2.2 Mesotheliome

Das Mesotheliom ist ein meist diffus wachsender, vom einschichtigen mesothelialen Plattenepithel der serösen Häute ausgehender Tumor. Seine häufigste Lokalisation ist die parietale Pleura. Mesotheliome sind oft schwer zu diagnostizieren. Die Latenzzeit des Pleuramesothelioms kann bis zu 40 Jahre betragen.

Befunde zu Asbest- und Erionitfasern

Asbestfasern und Erionitfasern verursachen Mesotheliome bei Exponierten. Erionit induziert bei Ratten und Mäusen erhöhte Mesotheliominzidenzen (Begründung „Asbest-Feinstaub und asbesthaltiger Feinstaub“ 1973; Begründung „Asbest-Feinstaub und asbesthaltiger Feinstaub“ 1978; Begründung „Asbest-Feinstaub und asbesthaltiger Feinstaub“ 1981; Begründung „Faserstäube“ 1993; IARC 2002, 2009).

Die Eigenschaft, Mesotheliome hervorzurufen, ist bei Erionit weitaus stärker ausgeprägt als bei den Asbestarten. Hauptsächlich betroffen ist die Pleura parietalis des Thoraxraums (Baris et al. 1996; IARC 2009).

Befunde zu anderen Mineralfasern

Bestimmte Typen von Glasfasern, Steinwollfasern, Siliciumcarbidfasern und Keramikfasern können nach inhalativer, intratrachealer oder intraperitonealer Verabreichung maligne Mesotheliome in Nagetieren induzieren (Begründung „Faserstäube“ 1993; IARC 2002; NTP 2010, 2016; s. Einzelbewertung der Fasern).

Bisher liegen zumeist negative epidemiologische Befunde bezüglich eines Zusammenhangs zwischen der Exposition gegen synthetische Mineralfasern und der Diagnose eines Mesothelioms oder Lungentumors vor. Diese müssen jedoch mit Vorbehalt interpretiert werden, da die Expositionen in den bisherigen Studien deutlich geringer waren als in positiven epidemiologischen Studien zu Asbest. Des Weiteren sind die Beobachtungszeiten der bisherigen epidemiologischen Studien zu synthetischen Mineralfasern teilweise zu kurz, als dass sich, bei anzunehmenden, vergleichbar langen Latenzzeiten wie nach Asbestexposition derzeit bereits gesicherte Aussagen treffen ließen (Boffetta et al. 2014; IARC 2002, 2009; ILSI 2005; Lipworth et al. 2009; NTP 2010, 2016).

2.3 Mechanismen der Fasertoxizität und der Faserkanzerogenese

Der Mechanismus von Fasertoxizität und Kanzerogenese ist sehr komplex und hinsichtlich vieler Einzelheiten unklar. Die vorgeschlagenen Hauptwege der Faser-induzierten Kanzerogenese beruhen a) auf den physikalischen und chemischen Eigenschaften der Fasern (u.a. Faserdimensionen, chemische Zusammensetzung, Stabilität, Oberflächenreaktivität, Biopersistenz) sowie b) der Entzündung, die nach Inhalation der Fasern in der Lunge ausgelöst wird (Hei et al. 2006; IARC 2006, 2009) (s. Abbildung 5).

Obwohl in diesem Abschnitt Asbest nicht Gegenstand mechanistischer Überlegungen ist, dienen gut untersuchte Facetten der Asbestwirkungen als Anhaltspunkte für die Frage, inwieweit künstliche Mineralfasern ähnliche Effekte zeigen.

Entsprechend lassen sich mehrere zellbiologische Wirkungsbereiche abgrenzen, die zur Krebsentstehung beitragen.

- Natürliche und künstliche Mineralfasern sind imstande, in zellfreien und in In-vitro-Modellsystemen reaktive Sauerstoff- und Stickstoff-Spezies (ROS, RNS) sowie Halogen-Intermediate zu bilden. Zu diesen zählen H_2O_2 , $\text{O}_2^{\bullet-}$, Singulett-Sauerstoff, Peroxynitrit, Nitroniumionen und HOCl (Halliwell 2006). Diese können mannigfaltige DNA-Modifikationen bewirken. Beschrieben sind auch Gen-Mutationen und Gen-Amplifikationen (Wang et al. 1999). Makrophagen setzen infolge unvollständiger oder „frustranter“ Phagozytose Botenstoffe frei, die zunächst weitere Makrophagen und schließlich neutrophile Granulozyten (Neutrophile) anlocken. Aktivierte Neutrophile setzen über eine Myeloperoxidase-vermittelte Reaktion zytotoxisches HOCl frei (Parker et al. 2012) und als Nebenprodukte weitere reaktive Substanzen, einschließlich reaktiver Sauerstoff- und Stickstoffspezies. Letztere können auf Nachbarzellen einwirken und auch DNA-Schäden verursachen.
- Fasern können Makrophagen, Mesothelzellen und Alveolarepithelzellen zur Inflammasomen-vermittelten Freisetzung von Cytokinen und Wachstumsfaktoren

veranlassen, sodass es zu chronischer Entzündung und Zellproliferation in Lunge und Pleura kommt (Dostert et al. 2008).

Fasern können unmittelbar mit Zielzellen (Epithelzellen, Mesothelzellen, Fibroblasten) reagieren, indem sie nach Rezeptor-vermittelter Endozytose (Heintz et al. 2010) Entzündungssignale oder chromosomale Veränderungen hervorrufen (Hart et al. 1994; NTP 2010, 2016; Ong et al. 1997; Zhong et al. 1997). Dokumentiert sind Aneuploidien, Mikrokerne und Chromosomenaberrationen.

Speziell dünne und lange Asbestfasern können mit der Mitosespindel auch direkt in Wechselwirkung treten, wobei sie Chromosomen wegziehen oder deren Bewegung blockieren (Ault et al. 1995).

Fasern können epigenetische Veränderungen hervorrufen, d. h. erbliche Veränderungen der Genexpression, die nicht in einer DNA-Sequenzänderung verankert sind (Andujar et al. 2007; Lecomte et al. 2005).

Allerdings ist nicht klar, wie die verschiedenen, sich überlappenden zellulären Signalwege der Genaktivierungen und -inaktivierungen koordiniert sind, denn die Netzwerke der Entzündung, der DNA-Reparatur, der Zellproliferation und der Apoptose beeinflussen sich wechselseitig. Sicher ist, dass zwischen anhaltender Entzündung und Tumorentstehung ein enger Zusammenhang besteht (Bernstein 2007 a, b; Huang et al. 2011; ILSI 2005; WHO 2006).

Während reaktive Sauerstoffspezies sowohl durch nicht-faserförmige als auch durch faserförmige Partikel gebildet werden, weisen Zellzyklus-assoziierte chromosomale und nukleäre Anomalien auf eine Exposition gegen Fasern hin.

Im Folgenden werden die oben kurz dargestellten Mechanismen der Tumorentstehung durch Faserexposition näher erläutert.

2.3.1 Faseroberflächenreaktivität

Für die pathogene Wirkung von Fasern spielt die Oberflächenreaktivität eine wichtige Rolle (Begründung „Faserstäube“). Die Wechselwirkung der Oberflächen mit O₂ und mit Biomolekülen aus der physiologischen Umgebung und Zellmembranen kann zur Generierung reaktiver Substanzen wie ROS und RNS führen, wodurch z. B. pulmonale Entzündungen induziert bzw. die entzündlichen Wirkungen verstärkt werden können (Braakhuis et al. 2014). Die Oberflächenreaktivität ergibt sich aus der chemischen Zusammensetzung, der Struktur der Faseroberfläche sowie aus den physikalisch-chemischen Eigenschaften der Faseroberfläche, wie Hydrophilie, Ladung, morphologische Beschaffenheit und der Austauschmöglichkeit von katalytisch aktiven Metallkationen. Folgende Wirkungen werden beeinflusst (Bernstein et al. 2005; Braakhuis et al. 2014; Fubini et al. 1998; Hippeli et al. 2001; Kane 1996; Kucki et al. 2014; Monchaux et al. 1981; Warheit und Gavett 1993; WHO-Report 2008):

- Adsorption an exogene und endogene Moleküle, wodurch die Bildung einer komplexen Proteinkorona, die Rezeptor-vermittelte Zellinternalisierung, aber auch die Wirkstärke und der Wirkmechanismus beeinflusst werden
- Adhäsion an die Zellmembran und die Internalisierung in nicht-phagozytierende Zellen
- Internalisierung in Phagolysosomen und damit verstärkte Ausschüttung von Cytokinen und Wachstumsfaktoren

- ROS- und RNS-Freisetzung und DNA-Schädigung
- Freisetzung von Metallionen
- Biopersistenz und Clearance
- Translokation in verschiedene Kompartimente

An den Faseroberflächen sind die Atome und Ionen schwächer koordiniert, weshalb von ihnen eine größere Reaktivität ausgeht (Fubini 1993, 1997; Hochella 1993; Kucki et al. 2014). Übergangsmetallionen an den Oberflächen führen zu unterschiedlichen Reaktionen. Sie können an der Luft oxidiert, hydratisiert und hydroxyliert werden (Fubini 1997). Elektrostatische Wechselwirkungen sowie elektrochemische Vorgänge an der Faseroberfläche können zu Störungen intrazellulärer Abläufe führen. Durch einen Ionentransfer zwischen Faseroberfläche und der biologischen Umgebung kann die Oberflächenladung und damit die Pathogenität verändert werden (Fubini und Otero-Aréan 1999). In amorphen künstlichen Fasern und Kohlenstoff-Nanoröhrchen können in Spuren, aber auch in quantitativ relevanten Mengen, Übergangsmetalle vorkommen (s. Tabelle 1).

Aufgrund dieser Metallgehalte können Redoxreaktionen nicht ausgeschlossen werden (Aust et al. 2011).

Die Adsorption von endogenem Eisen an den Faseroberflächen und in den Oberflächenporen ist ebenfalls möglich. Dies wurde jedoch bisher nur bei Erionit beobachtet (Eborn und Aust 1995; Sanchez et al. 2009).

Fasern mit Silanolgruppen an den Faseroberflächen können aufgrund einer negativen Oberflächenladung endogenes Eisen adsorbieren (Dugger et al. 1964; Olson und O'Melia 1973; Begründung „Faserstäube“ 1993). Faseroberflächen, welche Sauerstoff-haltige funktionelle Gruppen besitzen, weisen aufgrund der negativen Polarität und Ladung ein ähnliches Potenzial zur Metallkationenadsorption auf (Crumbliss und Garrison 1988; Ghio et al. 2004). Das Eisen-III-Ion reagiert zudem mit Silanolgruppen unter Bildung eines Eisen-Silanol-Komplexes. Biologische Quellen für Eisen und andere Übergangsmetallionen liegen intra- und extrazellulär vor. Zelleigene Vorräte sind u. a. Ferritin, Hämosiderin, Aconitase, Xanthinoxidase sowie Eisen-Schwefel-Cluster-Proteine, die über Cysteinreste als zusätzliche Eisenliganden $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ gebunden haben (Ferredoxine) (Aust et al. 2011; Breuer et al. 1995; Koerten et al. 1990). Auch der Extrazellulärraum stellt ein Reservoir für Eisen-III-Ionen dar, z. B. in den Verbindungen Transferrin, Lactoferrin und Ferritin.

Eine erhöhte Konzentration an ROS und RNS kann zum einen auf direktem Weg als Folge einer ROS-Generierung an reaktiven Faseroberflächen resultieren (Churg 2003; Donaldson et al. 2013; Fantauzzi et al. 2012; Oberdörster 2002; Gazzano et al. 2005) und zum anderen eine indirekte Folge der aktivierten Abwehr-Mechanismen nach Faserexposition sein.

Die Menge an koordinierten aktiven Eisenionen an den Oberflächen korrelierte mit der ROS-Bildung in vitro (Fach et al. 2002; Fubini et al. 1995; Prandi et al. 2001), jedoch nicht mit der Menge an DNA-Schädigungen (Churg et al. 2000). Dies ist verständlich, da zum einen DNA-Schädigungen auch von anderen reaktiven Substanzen hervorgerufen werden können und zum anderen ROS weitere Wirkungen induzieren (Dizdaroglu et al. 2015; Jaurand 1997).

Tab. 1 Quantitative Menge an Metallen in verschiedenen Fasern (Cavallo et al. 2004; De Vuyst et al. 1995; Fubini und Otero-Aréan 1999; Hippeli et al. 2001; Sanchez et al. 2009)

Faser	Metall	Masseprozent
Glaswollfasern	Eisenoxid	0–1
	Zirkoniumoxid	0–0,4
	Magnesiumoxid	3
Spezialglasfasern	Eisenoxid	0–0,4
	Zirkoniumoxid	0–4
Steinwollfasern	Eisenoxid	1,5–12,4
	Magnesiumoxid	9,25–10,9
	Manganoxid	0–0,16
Schlackenwollfasern	Eisenoxid	0,9–5
Aluminiumsilikatfasern	Eisenoxid	0–1
	Zirkoniumoxid	0–17
	Yttriumoxid	0–8
Kohlenstoff-Nanoröhrchen	Cobalt, Eisen, Nickel, Yttrium, Molybdän	Spuren

Bezüglich des Einflusses der Faseroberflächen-assozierten Metallionen und deren redoxaktiver Wirkung zur Bildung von ROS und RNS wurde beobachtet, dass durch Eisen und andere elektrochemisch wirksame Oberflächenmaterialien bei Multiwall Carbon Nanotubes (MWCNT) keine verstärkte Reaktivität hervorgerufen wird, die eine Kanzerogenität dieser Nanoröhrchen bewirken könnte (Donaldson et al. 2010). Dagegen wurde gezeigt, dass Metallkatalysatorrückstände in den Nanomaterialien unter physiologischen Bedingungen bioverfügbar sind (Guo et al. 2007; Liu et al. 2007; Shvedova et al. 2005). Die Befunde der einzelnen Untersuchungen an Carbon Nanotubes (CNT) hängen von der speziellen Synthese der Materialien, der genauen Zusammensetzung sowie der Bioverfügbarkeit der verwendeten Metallionen ab. Untersuchungen in vitro in Abwesenheit und Anwesenheit von BEAS-2B-Zellen haben gezeigt, dass lange nadelförmige MWCNT (*Durchmesser* = 74 nm, *Länge* = 5,7 µm; *Durchmesser* = 64 nm, *Länge* = 4 µm) zu einer dosisabhängigen Bildung von bisher nicht identifizierten Radikalen führten (Nymark et al. 2014).

2.3.2 Produktion von reaktiven Sauerstoff- und Stickstoffspezies (ROS, RNS)

Die Produktion von ROS und RNS durch synthetische Mineralfasern wurde in zahlreichen Studien sowohl in zellfreien Systemen als auch in Zellmodellsystemen bei Verwendung von Glaswolle, Steinwolle, Schlackenwolle, Siliciumcarbid-Whisker und Keramikfasern nachgewiesen (IARC 2002, 2006; ILSI 2005; Nishiike et al. 2005; NTP 2010; Rapisarda et al. 2015).

Die vorgeschlagenen Entstehungsmechanismen von ROS und RNS sind:

1. die direkte Bildung aktivierter Sauerstoffspezies (Wasserstoffperoxid, Superoxid-Anionen, Hydroxylradikale) an der Faseroberfläche (Maples und Johnson 1992)
2. nach Aufnahme der Fasern in Zielzellen: Bildung und Freisetzung der aktivierten Sauerstoffspezies, intensiviert durch die Aktivität katalytisch wirkender Eisen-II-Ionen. Die Fasern entziehen diese Ionen – je nachdem wie hoch die Affinität der Faseroberflächen für Eisen-Ionen ist – den locker gebundenen Eisen-Schwefel-Zentren (sog. 4Fe-4S-clusters) bestimmter Enzyme (z. B. Dehydratasen (Liochev und Fridovich 1999)). Durch eine hohe Konzentration an reaktiven Sauerstoffspezies kommt die Zelle in eine Stoffwechsellage, die als oxidativer Stress bezeichnet wird (Cardinali et al. 2006).

Die Freisetzung von aggressiven Sauerstoff- und Stickstoffspezies („oxidative burst“) tritt ein, sobald Phagozyten (Makrophagen, Monozyten und polymorphkernige Granulozyten) Fasern mehr oder weniger vollständig aufnehmen und versuchen, diese abzubauen. Im Vergleich zu granulären biobeständigen Stäuben werden besonders längere Fasern langsamer aus der Lunge eliminiert. Diese Situation führt zu einer Einwanderung weiterer Makrophagen, was eine verstärkte Bildung von ROS und RNS sowie eine stärkere entzündliche Schädigung des Gewebes zur Folge hat (Warheit und Gavett 1993). Zudem steigt die Menge an Makrophagen-induzierten Superoxiden ab einer Faserlänge > 6 µm stark an (Ohyama et al. 2000, 2001).

Bei der Entstehung reaktiver Sauerstoffspezies ist auch die membranständige NADPH-Oxidase beteiligt, die das Primärprodukt $O_2^{\cdot-}$ für weitere toxische Metaboliten liefert. ROS werden sowohl in das Lumen der Phagolysosomen als auch ins extrazelluläre Milieu abgegeben. Zusätzlich zu den ROS treten beim „oxidative burst“ RNS hinzu, insbesondere Stickstoffmonoxid (NO) und als Folgeprodukte der Reaktion mit ROS Peroxynitrit oder Nitronium-Ionen (Beckman und Koppenol 1996; Felley-Bosco 1998; Halliwell 2006; Pacher et al. 2007). NO und damit auch dessen Folgeprodukte entstehen im Zuge der Phagozytose aufgrund der Stimulation der induzierbaren NO-Synthase (iNOS). Darüber hinaus kommt Myeloperoxidase ins Spiel, ein insbesondere für neutrophile Granulozyten charakteristisches Enzym. Es erzeugt aus Wasserstoffperoxid und Chlorid Hypochloritanionen (OCl^-), die einer homolytischen Dissoziation zu $Cl^{\cdot}$ unterliegen und z. B. Nucleobasen der DNA chlorieren können (Hawkins et al. 2007).

Ergebnis der Freisetzung der reaktiven Sauerstoff- und Stickstoffspezies sind hauptsächlich Schäden an der DNA. Infolge der Modifikationen der Desoxyribose werden Strangbrüche induziert; außerdem kommt es zur chemischen Veränderung bzw. Zerstörung der verschiedenen Basen und damit zu Fehlpaarungen und Mutationen. Häufig sind die Bildung von 7,8-Dihydro-8-oxo-2'-desoxyguanosin (8-OH-dG) und darüber hinaus zahlreiche andere DNA-Basenmodifikationen identifiziert worden, mit unterschiedlichem Basenfehlpaarungspotenzial (Cooke et al. 2003; Evans et al. 2004). Der oxidative Stress ist ein wesentlicher Mechanismus der Kanzerogenität der Fasern (Nguea et al. 2008). Auch Kohlenstoff-Nanoröhrchen, sowohl einwandige (SWCNT) als auch mehrwandige (MWCNT), induzieren die Produktion von ROS, z. B. in der transformierten Makrophagenzelllinie der Maus RAW 264.7 (Di Giorgio et al. 2011).

2.3.3 Wechselwirkungen mit endogenen Biomolekülen und nicht-phagozytierenden Zellen

Endogene Materialien können an die Faseroberflächen über nichtkovalente Bindungen adsorbieren und eine Korona bilden. Dabei sind die chemische Zusammensetzung, die Ladung, die Polarität, das Potenzial Wasserstoffbrücken-Bindungen einzugehen, sowie die Hydrophobie entscheidend (Fubini 1997; IARC 2009). Es ist bekannt, dass die Bindung von Phospholipiden, Proteinen oder Kationen sowie deren Freisetzung die Bindung von Fasern an Zellen sowie deren Internalisierung und Toxizität in nichtphagozytierenden und phagozytierenden Zellen beeinflussen (Boylan et al. 1995; Churg 1996; Fubini et al. 1995; Kucki et al. 2014; Möller et al. 2014).

So kann die Adsorption von Vitronectin über die Interaktion mit Integrin-Rezeptoren zur Internalisierung der Fasern (Krokydolith, Chrysotil, jedoch nicht Wollastonit, obwohl auch negativ geladen) in nichtphagozytierende Zellen, wie Mesothelzellen, führen (Boylan et al. 1995; Fubini et al. 1998).

Die Internalisierung von Asbestfasern ist erst in den 70er Jahren beschrieben (Jaurand et al. 1979; Suzuki 1974) und auch von verschiedenen anderen Autoren später bestätigt worden (Boylan et al. 1995; Pande et al. 2006; Wu et al. 2000). Dabei sind sich die Autoren einig, dass die Internalisierung der Asbestfasern durch ihre Wechselwirkung mit Membranproteinen, welche an der Faseroberfläche adsorbiert wurden, verstärkt wird. Es wird beobachtet, dass adsorbiertes Vitronectin (ein Serumprotein) die Internalisierung über den Integrin- $\alpha_v\beta_3$ -Rezeptor erhöht. In anderen Studien ist ermittelt worden, dass die internalisierten Asbestfasern von einem Marker für Endosomen und Phagosomen, der kleinen GTPase Rab5a, umschlossen sind (Broadus et al. 2011; Henry et al. 2004; Nagai et al. 2011). Diese Befunde verdeutlichen die Zellinternalisierung von Asbest via Endozytose.

Ähnlich wie Asbestfasern können auch künstliche Mineralfasern, die nicht von Makrophagen abtransportiert werden, von Epithelzellen aufgenommen und zum pleuralen Raum abtransportiert werden (NTP 2016; Oberdörster 2002).

Fasern können mit Zellen der Alveolen und Bronchien sowie denen der parietalen Pleuramembran interagieren und zur Schädigung dieser Zellen führen. Die Exposition gegen unterschiedliche Fasern, wie Glas- und Steinwollfasern, Aluminiumsilikatfasern und Krokydolith, führt zu einer dosisabhängigen Reduktion von Mikrovilli bei humanen Mesothelzellen. Mit steigender Krokydolithkonzentration verändert sich die Zellform und es bilden sich Löcher und Risse in den Zellmembranen. Eine Steinwollfaserart führt bei höheren Konzentrationen von 5 und 10 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ zur Bläschenbildung („blebs“) an den Zellen, die ein Marker für oxidativen Stress ist. Dies ist vereinzelt auch nach Exposition gegen Glaswollfasern beobachtet worden. Die Fasern sind dabei schon zum Teil in die Zellen phagozytiert (Cavallo et al. 2004). Nach Meinung der Autoren lässt sich dies durch die zytotoxische Wirkung der Fasern, beziehungsweise durch mechanische Effekte der Fasern auf die Zellen, begründen.

Kohlenstoff-Nanoröhrchen. Da Kohlenstoff-Nanoröhrchen (Carbon Nano Tubes, CNT) in den letzten Jahren industriell große Bedeutung erlangt haben, sind

zahlreiche Untersuchungen mit diesen Fasern zu Wechselwirkungen mit endogenen Biomolekülen und nichtphagozytierenden Zellen durchgeführt worden.

Kohlenstoff-Nanoröhrchen (Single Wall Carbon Nano Tubes, SWCNT und Multi Wall Carbon Nano Tubes, MWCNT) können in Abhängigkeit von der Länge in nichtphagozytierende Zellen, wie Endothelzellen, Mesothelzellen, Epithelzellen und T-Zellen, internalisieren, wonach sie frei oder membranumhüllt im Zytoplasma vorliegen (Donaldson et al. 2006; Möller et al. 2014). In einigen Untersuchungen wurde beobachtet, dass große CNT, die nicht funktionalisiert sind, nicht durch Endozytose in die Zellen gelangen können. Während diese Fasern durch eine Konjugation von Folsäure mit MWCNT wahrscheinlich über einen Rezeptor-vermittelten Weg in die Zelle eindringen können (Dhar et al. 2008; Kam et al. 2005 a; Kang et al. 2008, 2009, 2010), blieb dies den Albumin-überzogenen MWCNT verwehrt. Oxidierte Nanoröhrchen mit zusätzlichen spezifischen Liganden können schneller und leichter über eine Endozytose von den Zellen aufgenommen werden (Bhirde et al. 2009; Iancu et al. 2011; Kam und Dai 2005; Kam et al. 2005 b; Kang et al. 2008). Die Oberflächenbeschichtung beeinflusst maßgeblich die Aufnahme von CNT in die Zelle. Die Bildung einer Proteinkorona und die Adsorption von Rezeptor-spezifischen Proteinen können eine Internalisierung der Fasern in nichtphagozytierende Zellen ermöglichen (Möller et al. 2014).

Dies bedeutet, dass CNT, sofern sie einen geringen Durchmesser und eine positiv geladene Oberfläche haben, direkt die Zelle penetrieren. Die Anwesenheit spezifischer Liganden kann die Aufnahme von CNT mit einem großen Durchmesser unterstützen, da diese nun über eine Liganden-vermittelte Endozytose von den Zellen aufgenommen werden.

Bei den geraden langgestreckten MWCNT wird anstelle der Endozytose ein direktes, Durchmesser- und Rigiditäts-abhängiges Penetrieren der Plasma- und Kernmembran beobachtet (Hu et al. 2010; Nagai et al. 2011). Ein aktiver Internalisierungsprozess erklärt jedoch das Vorliegen von membranumschlossenen intrazellulären Fasern, wie es in mehreren Studien beobachtet wird (Foldbjerg et al. 2014; Guo et al. 2011; Lindberg et al. 2013; Manshian et al. 2013; Monteiro-Riviere et al. 2005; Srivastava et al. 2011).

Wie in vielen neuen Studien berichtet wird, sind die Rigidität und die gerade Nadelform maßgeblich für die pathogene Wirkung von CNT. Steife und geradlinige MWCNT („*long needle like*“, Durchmesser 8–15 nm, Länge 10–50 µm) können anders als flexible MWCNT („*long tangled*“, Durchmesser ≥ 50 nm, Länge ca. 13 µm) aufgrund ihrer Rigidität und Nadelform Zell- und DNA-Schäden hervorrufen. Diese Effekte werden in weiblichen C57Bl/6-Mäusen nach Inhalation und auch nach pharyngealer Applikation in den Lungenzellen und Zellen aus der Bronchiallavage festgestellt (FIOH 2013). Bei Mäusen, denen verschiedene MWCNT (unterschiedlicher Längen: 1–2 µm gerade, 1–5 µm verknäuelte, 36 µm gerade) durch Aspiration appliziert worden sind, wird eine von der Faserlänge abhängige Wirkung auf das Lungengewebe festgestellt (Murphy et al. 2013). Nur lange Fasern bewirken eine akute neutrophile Entzündung, die mittels bronchoalveolärer und pleuraler Lavage nachweisbar ist. Zudem tritt eine zunehmende Verdickung der Alveolarsepten und Läsionen entlang der parietalen Pleura auf. Nach i.p.-Applikation bei der Ratte wird

berichtet, dass verschiedene geradlinige CNT auch im Vergleich zu Krokydolith eine starke Mesotheliom-induzierende Wirkung zeigen (Rittinghausen et al. 2014).

Durch die Interaktion von Fasern wie Asbest und Kohlenstoff-Nanoröhrchen (Nagai und Toyokuni 2012) mit den Mesothel- und Epithelzellen werden sowohl das umliegende Gewebe geschädigt als auch Faser-induzierte Lungenerkrankungen und Pleuraschäden hervorgerufen. Die Aufnahme der Fasern in die Zellen ist nach Nagai und Toyokuni (2012) ein wichtiger Schritt in der Kanzerogenese.

2.3.4 Chronische Entzündung

Allgemein kann eine chronische Entzündung zur Initiation, Promotion und Progression von Tumoren führen (de Visser et al. 2005). Die chronische Entzündung wird als treibender Prozess für weitere pathophysiologische Zell- und Gewebeveränderungen der Lunge angesehen (IARC 2002; ILSI 2005; NTP 2010). Die Schädigung der Epithelzellen führt zu Hyperplasie und Hypertrophie und gelegentlich zu Tumorentstehung (Driscoll et al. 1995; Mossman und Churg 1998; Oberdörster und Lehnert 1991; Saffiotti 1998; Tsuda et al. 1997). Chronische Entzündung der Lunge ist assoziiert mit der Freisetzung von Mediatoren wie Cytokinen (Interleukin1 (IL-1), Tumornekrosefaktor α (TNF α)), Chemokinen (IL-8), Makrophagen-inflammatorischem Protein (MIP), Wachstumsfaktoren (PDGF, EGF, IGF, FGF) und Arachidonsäuremetaboliten (Prostaglandin E₂, Leukotrien B₄). Experimentelle Daten in vivo zeigen, dass Glaswolle, Steinwolle, Schlackenwolle und Keramikfasern sowohl die Freisetzung des Tumornekrosefaktors α als auch eine Erhöhung von TGF- β sowie die Zunahme der BAL-Parameter (PMN Einströmen von neutrophilen Granulozyten, Freisetzung von Lactat-Dehydrogenase und Proteinen) induzieren können (Bermudez et al. 2003; Creutzenberg et al. 1997; IARC 2002; Morimoto et al. 1999, 2001; NTP 2010; Schürkes et al. 2004). Auch Kohlenstoff-Nanoröhrchen induzieren chronische Entzündung bei den exponierten Tieren (Poland et al. 2008). Nach intratrachealer Applikation verursachen MWCNT bei Ratten und Mäusen starke entzündliche Reaktionen in der Lunge (Kato et al. 2013; Porter et al. 2010).

Chronische Entzündung spielt eine wichtige Rolle bei der Entwicklung der Fibrose. In experimentellen Studien mit Nagetieren entwickelt sich der Lungenkrebs fast immer als Folge einer chronischen Entzündung und Fibrose der Lunge. Eine direkte Beziehung zwischen Lungenkrebs und Fibrose ist jedoch noch nicht klar nachgewiesen (Kane 1996). Gleichwohl ist eine Beziehung zwischen chronischer Entzündung, Fibrose und Krebs biologisch plausibel (NTP 2010).

2.3.5 Genotoxische Effekte

Wie in Abschnitt 2.3.2 erwähnt, können sowohl Asbestfasern als auch synthetische Mineralfasern durch Freisetzung von ROS und RNS DNA-Schäden verursachen. Falls diese durch entsprechende Reparatur nicht rückgängig gemacht werden, kommt es zu bleibenden genetischen Veränderungen. Im Einzelnen handelt es sich um ein Spektrum chemisch modifizierter DNA-Basen, um DNA-Brüche, Aneuploidie und DNA-Quervernetzungen.

Die DNA-Veränderungen durch Fasern lassen sich entsprechend ihrer Auslösung folgendermaßen differenzieren:

- Es kann eine direkte mechanische Wechselwirkung mit dem Spindelapparat oder dem Zytoskelett der Zelle auftreten, wobei es zum Verlust von Chromosomen oder Fehlsegregationen kommt. So ist, jedenfalls bei In-vitro-Inkubation von Säugerzellen mit langen Fasern, die Entstehung von aneuploiden, polyploiden, bi- und mehrkernigen Zellen beschrieben worden (Dopp und Schiffmann 1998). In vivo sind diese störenden Interaktionen jedoch bislang noch nicht beobachtet worden.
- Fasern, die aufgrund der Reaktivität ihrer Oberfläche, d.h. insbesondere durch ihren Gehalt an katalytisch aktiven Übergangsmetallen, Sauerstoff zu aktivieren vermögen oder das Enzym iNO-Synthase induzieren können, setzen die DNA-schädigenden Intermediate ROS bzw. RNS innerhalb der Zielzellen frei, z.B. in Bronchialepithelzellen und Mesothelzellen. Auch auf diese Weise können vielfältig modifizierte DNA-Basen sowie Desoxyribose-Fragmente in den DNA-Strängen entstehen (Cavallo et al. 2004; Elias et al. 2002; IARC 2002, 2006; Jaurand 1996; NTP 2010). Solche Effekte sind auch von Asbestfasern bekannt. Die Wirkstärke der synthetischen Mineralfasern ist jedoch geringer (Jaurand 1996; Mossman 2008; Ngueta et al. 2008). Hinzu kommt, dass die freigesetzten ROS und RNS gleichzeitig Tumorsuppressor-Gene wie p53, die an der DNA-Reparatur beteiligt sind, inaktivieren (Ohshima et al. 2006; Pacher et al. 2007), den DNA-Replikationsapparat jedoch stimulieren (Mossman et al. 2013), sodass zunächst noch reparable DNA-Veränderungen genetisch festgeschrieben werden. Die Anregung von Zellmembran-Rezeptoren, u.a. die des epidermalen Wachstumsfaktors oder des Tumornekrose-Faktors α , durch die o.g. Oxidantien sind für die gesteigerte Zellproliferation verantwortlich (Mossman et al. 2013).
- Den wesentlichen Beitrag zu DNA-Veränderungen in Bronchial- und Alveolarepithelien sowie in Mesothelzellen leistet jedoch die durch synthetische Fasern ausgelöste Entzündung. Diese wird hauptsächlich durch Phagozyten herbeigeführt, die sich an Orten der Faserablagerung anhäufen und beim Versuch, die Fasern abzutransportieren oder lokal abzubauen, massiv ROS und RNS freisetzen. Auf diese Weise werden die oben beschriebenen oxidativen DNA-Veränderungen in den benachbarten Zellen („Zielzellen“) nicht nur um ein Vielfaches gesteigert, es kommt auch zu neuen Arten von DNA-Schädigungen, da Phagozyten reichlich hochreaktive NO-Intermediate bilden. Nukleobasen werden nitriert und desaminiert, Einzel- und Doppelstrang-DNA-Brüche durchgeführt, die insgesamt das Spektrum der Schädigungen erweitern und auch epigenetische Folgen nach sich ziehen (Akuta et al. 2006; Sawa und Ohshima 2006). So greift die RNA-vermittelte Desaminierung von 5-Methylcytosin zu Thymin in den CpG-Inseln der Promotorregionen der Gene unmittelbar in die epigenetische Genregulation ein. Es ist bekannt, dass aufgrund der chemischen Aggressivität von Peroxynitrit, dessen Bildung aus O_2^- und NO sehr schnell erfolgt, auch Schlüsselproteine der DNA-Reparatur (Jones et al. 2009) und der Zellproliferationskontrolle (Hussain et al. 2003) angegriffen werden. Die Folgen äußern sich in genetischen und chromosomalen Veränderungen, die zur Kanzerogenität beitragen. Allerdings ist dieser Ablauf in seiner Gesamtheit experimentell mit synthetischen Fasern noch nicht nachgewiesen worden.

Es gibt nur wenige In-vivo-Untersuchungen zu den genetischen Effekten der synthetischen Mineralfasern (Kato et al. 2013; Osgood 1994; Schürkes et al. 2004; Topinka et al. 2006 a, b). Diese beweisen, dass es qualitative und quantitative Unterschiede zwischen den verschiedenen synthetischen Mineralfasern gibt. Das wird im Detail bei der Bewertung der jeweiligen Faser beschrieben.

Es bleibt festzuhalten, dass sich Hinweise auf genetische Effekte von synthetischen Mineralfasern hauptsächlich aus den In-vitro-Studien ergeben. Die meisten dieser Untersuchungen weisen jedoch aus heutiger Sicht methodische Mängel auf, und sind bislang in vivo nicht verifiziert worden.

Zusammenfassend können genotoxische Wirkungen bestimmter synthetischer Mineralfasern nicht eindeutig ausgeschlossen werden. Die derzeitige Datenlage spricht jedoch dafür, dass die direkte Genotoxizität der Fasern von eher untergeordneter Bedeutung und hauptsächlich vom oxidativen Status der Zellen abhängig ist und die daraus resultierenden Wirkungen parallel zu den entzündlichen Prozessen ablaufen.

2.3.6 Aktivierung von Signalwegen

Es sind zahlreiche mechanistische Untersuchungen der Faserwirkung publiziert worden, die Einzelheiten der Signalwege in lungentypischen Zellstämmen beschreiben. Solche Analysen sind bislang mit Asbest und Quarz an Phagozyten, Bronchial- und Alveolarepithelzellen durchgeführt worden (Albrecht et al. 2004; Castranova 2004; Fubini und Hubbard 2003; Mossman et al. 2006; Mossman und Glenn 2011; Ramos-Nino et al. 2003; s. Abbildung 6). In Makrophagen gleichen die Signalkaskaden, die durch künstliche Mineralfasern angeregt werden, weitgehend denen, die durch Quarz stimuliert werden. Es gibt jedoch Hinweise, dass künstliche Mineralfasern auch bei Lungenepithelzellen und Mesothelzellen oxidativen Stress und Proliferationssignale auslösen, sofern diese Fasern bestimmte Wechselwirkungen ausüben, die im Einzelfall zu prüfen sind (Cullen et al. 1997). Zu diesen Wechselwirkungen zählen: Bindung an die Zellmembran von Zielzellen, Bindung an spezielle Zellrezeptoren, die Möglichkeit der Aufnahme in Zellen durch Endozytose (oder Phagozytose) sowie die Fähigkeit, die Bildung von ROS und RNS im Inneren der Zellen anzuregen (Cardinali et al. 2006).

Verschiedene Signalwege sind bekannt, denen gemeinsam ist, dass ihre Impulse in die verstärkte Expression von Genen münden, die wachstumsfördernde Prozesse kontrollieren, wie Unterdrückung der Apoptose, Zellproliferation, Entzündung, Tumorpromotion u. a.

Dabei handelt es sich um

- die direkte oder TNF- α -vermittelte Anregung des Redox-empfindlichen Transkriptionsfaktors NF- κ B, der die Bildung und Freisetzung von Zytokinen (entzündungsfördernden Interleukinen, Chemokinen und Wachstumsfaktoren) induziert. Diese Anregung ist bei Exposition von epithelialen A549-Zellen gegen MMVF10, RCF-1- und SiC-Fasern nachgewiesen (Brown et al. 1999, 2002; Schins und Donaldson 2000). NF- κ B kann auch durch die ROS/RNS-stimulierte Proteinkinase B (AKT)

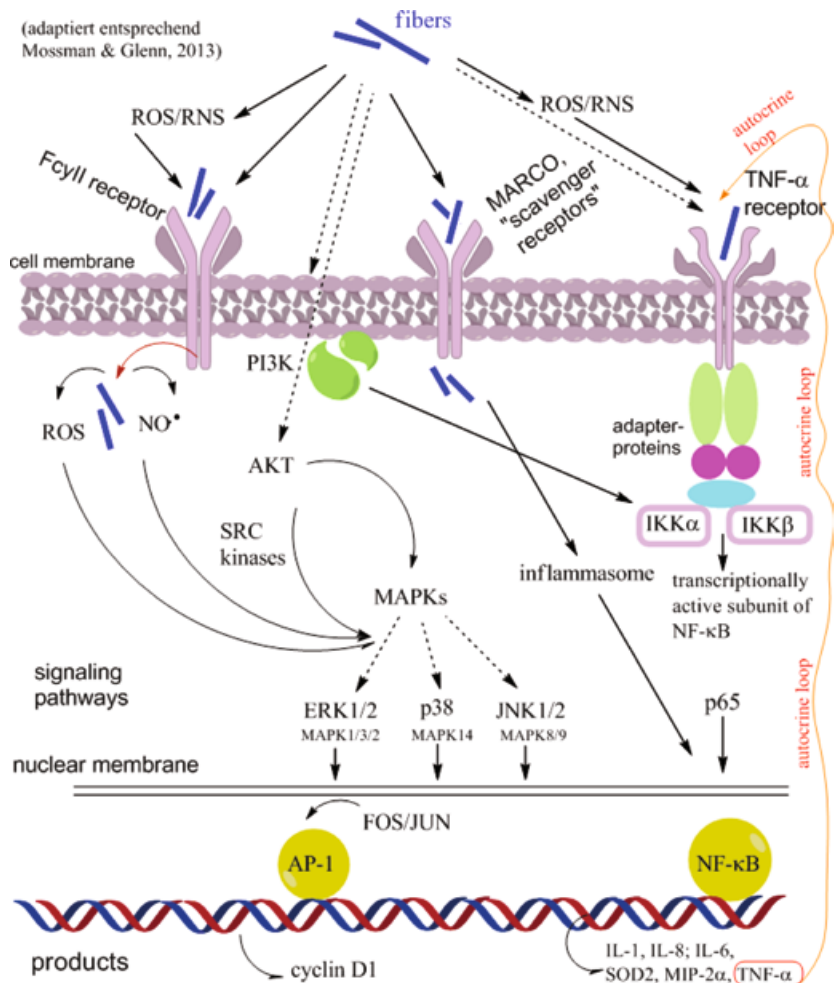


Abb. 6 Wirkungsmechanismen der biopersisten Fasern in Alveolarmakrophagen u. Lungenepithelzellen (adaptiert entsprechend Mossman und Glenn 2013)

Bezeichnungen auf Englisch gemäß Human Genome Nomenclature und Universal Protein Resource. **MARCO**: macrophage receptor with collagenous structure; **SOD**: superoxide dismutase; **IKKα**: inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase subunit alpha; **IKKβ**: inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase subunit beta; **PI3K**: phosphatidylinositol 3-kinase; **ERK1/2**: MAPK1/3/2; **p38**: MAPK14 (JUN1/2, stress-induced kinases); **AKT**: protein kinase B; **TNF-α**: tumor necrosis factor α; **AP-1**: activator protein, transcription factor; **SRC kinases**: non-receptor tyrosine kinases; **MIP-2α**: macrophage inflammatory protein 2α

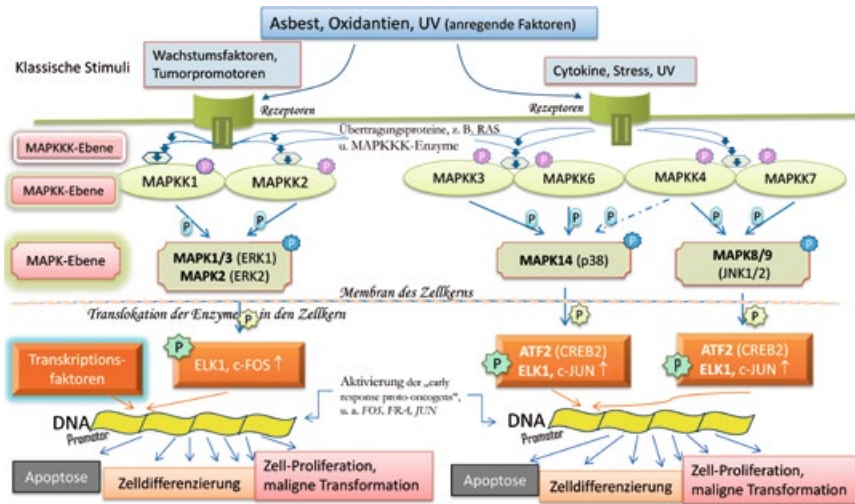


Abb. 7 Die durch Asbest/Oxidantien induzierten MAPK-Signaltransduktionswege in Säugerzellen (Ramos-Nino et al. 2002; modifiziert)

MAP-Signaltransduktionswege in Säugerzellen MAPKK1/2/3/4/6/7: „dual specificity mitogen-activated protein kinase kinases 1/2/3/4/6/7/mitogen-activated protein kinase kinase“. **MAPK1/2/3**: „mitogen-activated protein kinases 1/2/3 = ERK1/2“ (ERK: „extracellular signal-regulated kinases“; sind hauptsächlich bei wachstumsfördernden Prozessen, auch solchen, die durch Asbest oder H_2O_2 ausgelöst werden, aktiviert). **MAPK14** (auch MAP kinase p38 α - δ) und **MAPK8/9** (auch JNK1/2: „c-JUN-N-terminal kinases 1/2/3“) werden durch extrazellulären Stress (z. B. UV-Licht, Hungersignale, osmotische Veränderungen, oxidativen Stress) und proinflammatorische Cytokine aktiviert.

freigesetzt oder durch Phosphatidylinositol-3-Kinase phosphoryliert, d. h. aktiviert werden (s. Abbildung 6 und 7).

- die vielstufige Stimulierung der Stress-Kinasen (ERK1/2; p38; JNK1/2), die ihrerseits über die Aktivierung entsprechender Transkriptionsfaktoren (JUN, FOS, FRA1, d. h. AP-1) die Zielgene der Zellproliferation zur Expression treiben (u. a. das Gen des Cyclins D1, das den Zellzyklus anstößt). Dieser Signalweg kann auf verschiedene Weise angeregt werden, durch Wechselwirkung von Faserstäuben, entweder mit der Zellmembran selbst oder unter Zwischenschaltung von Zelloberflächen-Rezeptoren (z. B. Integrinen, EGF-Rezeptor). Auch Proteinkinase C kann am Anfang des Signalweges stehen.
- die Aktivierung der Proteinkinase B (AKT). Diese unterdrückt die Apoptose, indem sie proapoptische Proteine (z. B. BAD, Caspase 9) hemmt, auf diese Weise das antiapoptische System aktiviert und gleichzeitig die DNA-Reparatur stimuliert (Roos et al. 2016). Somit gewinnen ROS/RNS-geschädigte mutierte Zellen die Möglichkeit zu proliferieren.

2.3.7 Zytotoxizität und Proliferation von Zielzellen

Zellproliferation wird u. a. durch Gewebeschäden (Zytotoxizität) ausgelöst. Nach Inhalation induzieren synthetische Mineralfasern die Zellproliferation in den terminalen Bereichen der Atemwege (Brown et al. 2002). In vitro ist gezeigt worden, dass die Zytotoxizität der Fasern hauptsächlich von ihrer Länge abhängig ist (NTP 2010).

2.3.8 Epigenetische Effekte

Aus der Stimulierung der Myeloperoxidase resultieren ROS und Chlor-Radikale, die Cytosin-Basen der DNA in Position 5 mit OH-Gruppen oder Chlor-Gruppen substituieren. Diese sind als biologische Mechanismen identifiziert worden, die bei chronischer Entzündung zu umfangreichen epigenetischen Veränderungen (u. a. „gene silencing“ von Tumorsuppressorgenen) und somit zur Entwicklung von Krebs führen können (Andujar et al. 2007; Valinluck und Sowers 2007; s. Anhang).

3 Toxikokinetik und Metabolismus

3.1 Kinetik

3.1.1 Deposition

In zahlreichen Publikationen und in Übersichtsartikeln wurden die Prinzipien der Faserdeposition anorganischer Fasern beschrieben (u. a. Asgharian und Yu 1988; Bernstein et al. 2005; IARC 2002). Ein wichtiger Faktor für das Depositionsverhalten von Fasern ist der aerodynamische Durchmesser, welcher im Wesentlichen durch den Faserdurchmesser, aber auch durch die Orientierung in der Strömungsrichtung bestimmt wird. Weitere Faktoren sind physikalische Fasercharakteristika, anatomische und physiologische Parameter der oberen und unteren Atemwege bis hin zur Pleura sowie die Fraktion der deponierten Fasern, deren Clearance und Translokation (Dai und Yu 1998).

Die Faserdeposition an den Oberflächen des Respirationstraktes erfolgt aufgrund einer Sedimentation, einer Impaktierung oder einer Interzeption, deren Effizienz mit der Faserlänge korreliert. Generell kann nach einer Exposition gegen Partikel die lokale Konzentration an anatomischen Strukturen, wie etwa den Bifurkationen der Bronchien, erhöht sein, weshalb Entzündungen und Gewebeschäden bis hin zu Tumoren vornehmlich an diesen Stellen auftreten (Begründung „Allgemeiner Staubgrenzwert (A-Fraktion) (Granuläre biobeständige Stäube (GBS)“ 2012). Je nach Spezies und deren anatomischen Gegebenheiten gibt es aber Unterschiede in der alveolären Deposition von inhalierten Partikeln und Fasern. Dies muss bei der Übertragung von Ergebnissen aus tierexperimentellen Inhalationsstudien auf den Menschen berücksichtigt werden (IARC 2002). Während Fasern mit einem aerodynamischen Durchmesser $> 3,5 \mu\text{m}$ nur noch mit einer sehr geringen Wahrscheinlichkeit in den Alveolarbereich von Ratten und Hamstern gelangen können, ist dies für Fasern dieser Geometrie beim Menschen aufgrund der größeren Atemwege eher

möglich (Dai und Yu 1998). Inhalationsstudien mit Ratten und Mäusen ergeben, dass eine Faserdeposition in diesen Tieren vornehmlich auf den ersten Alveolar-gang-Bifurkationen stattfindet (Brody und Roe 1983; IARC 2002; Warheit et al. 1988). Aus anderen Studien geht hervor, dass 50 % aller Fasern mit einem aerodynamischen Durchmesser von $\leq 0,1 \mu\text{m}$ in den Alveolarbereich der Ratten gelangen und ausgeschieden werden (Bernstein et al. 2005). Aufgrund der Anatomie (Größe der Nase und Gestalt der Nasenmuscheln) und Physiologie (Nasen-/Mundatmer) werden im Vergleich zur Ratte beim Menschen quantitativ mehr und größere Fasern in der Lunge im Alveolarbereich ausgeschieden. Ein Vergleich der Faserdeposition von Mensch und Hamster zeigt, dass auch die Faserlänge eine wichtige Rolle spielt (Faserlänge 3–5 μm : ähnliche Depositionsfractionen f_D ; Faserlänge $\geq 15 \mu\text{m}$: $f_D^{\text{Mensch}} > f_D^{\text{Hamster}}$) (Dai und Yu 1998).

Die retinierte Dosis inhalierter Partikel ist generell bestimmt durch die deponierte Dosis, abzüglich des durch Clearance eliminierten Anteils (Bernstein et al. 2005), und wird in der Regel tierexperimentell durch Messungen der in der Lunge vorhandenen Fasern zu verschiedenen Zeitpunkten bestimmt. Persistente Fasern liegen aufgrund der gehemmten Clearance lokal für einen langen Zeitraum in sehr hohen Dosen vor. Dort können sie auch ohne reaktive Oberfläche oder Anwesenheit toxischer Elemente, wie Bor, durch eine chronische Entzündung ein Tumor-induzieren-des Potenzial aufweisen.

Befunde zu nanoskaligen Fasern

In Untersuchungen von Silber-Nanodrähten („*silver nano wires*“ AgNW), Länge 4 μm , werden nach Injektion in die Pleura von Mäusen pathogene Effekte beobachtet (Schinwald et al. 2012 a). Die Deposition von CNT in der Lunge ist abhängig von deren Form (gekrümmt, verknäult oder langgestreckt) sowie dem Auftreten als einzelne Faser oder als Agglomerat (Maynard et al. 2004; Shvedova et al. 2005). Als Agglomerate werden sie wahrscheinlich je nach aerodynamischem Durchmesser analog zu granulären Partikeln in der Lunge abgelagert. Langgestreckte einzelne CNT können wie Mineralfasern bis in die untersten Lungenbereiche gelangen, die viszerale Pleura durchdringen und den Pleuraspalt erreichen (Donaldson et al. 2006). Die Rigidität spielt für die Deposition, aber auch für Clearance, Translokation und schließlich auch für die Wirkung eine wichtige Rolle (Nagai et al. 2011).

3.1.2 Clearance

Entsprechend dem jeweiligen Lungenabschnitt werden faserförmige Partikel über die verschiedenen Clearance-Mechanismen abtransportiert (Begründung „Allgemeiner Staubgrenzwert A-Fraktion (Granuläre biobeständige Stäube (GBS)“– 2012; Begründung „Allgemeiner Staubgrenzwert“ 1997). Alle diese Clearanceprozesse beeinflussen die Biopersistenz einer Faser (IARC 2002). Biopersistenz umfasst die Biobeständigkeit einer Faser über die Zeit sowie deren Clearance. Die Biobeständigkeit beschreibt dagegen die Möglichkeit der Zersetzung und des Auflöserns oder der Löslichkeit einer Faser (NTP 2010). Folgende Clearance-Mechanismen tragen zur Elimination aus der Lunge bei:

Physiologische Prozesse:

- Mukoziliäre Clearance aus Nase und tracheobronchialen Bereich
- Abtransport durch alveoläre Makrophagen (eingeschränkt für Fasern, deren Länge den Makrophagendurchmesser überschreitet)
- Interstitielle Translokation
- Lymphatische Clearance (eingeschränkt für Fasern länger als ca. 5 µm)

Physikochemische Prozesse:

- Faserauslaugung oberflächlicher Komponenten
- Auflösung von Fasern
- Brechen und damit Verkürzung von Fasern.

Im nasalen und tracheobronchialen Bereich der Atemwege werden Partikel und Fasern über die mukoziliäre Clearance abtransportiert (Lippmann et al. 1980). Im Alveolarbereich können kurze Fasern von Makrophagen phagozytiert und abtransportiert werden oder in das Interstitium penetrieren und zu den Lymphknoten transportiert werden (Warheit und Gavett 1993).

Die Clearance erfolgt im Alveolarbereich langsamer als in den oberen Atemwegsbereichen (IARC 2002; Pinkerton et al. 1993).

Die Faserlänge ist ein limitierender Faktor der Makrophagen-vermittelten und auch der lymphatischen Clearance. Fasern, deren Länge den Durchmesser eines Alveolarmakrophagen überschreiten, sind nicht oder nur unvollständig phagozytierbar („*frustrated phagocytosis*“) (Dörger et al. 2000, 2001; Hamilton et al. 2009; Ji et al. 2012; Murphy et al. 2012, 2013; Ye et al. 1999). In einer Studie mit Mäusen wird berichtet, dass peritoneale Makrophagen langgestreckte Fasern (Amosite, MWCNT) einer Länge > 15 µm nicht mehr phagozytieren können (Poland et al. 2008). Diese Befunde wurden in einer Studie mit Mäusen bestätigt, welche gegen AgNW exponiert waren. Alveoläre Makrophagen phagozytieren Fasern mit einer Länge > 14 µm nicht mehr, eine akute pulmonale Entzündungsreaktion wird ausgelöst (Schinwald und Donaldson 2012). Eine Faserlänge von >14 µm kann somit als kritische Faserlänge für das Auftreten einer „frustrierten Phagozytose“ in Mäusen angesehen werden. Mit Alveolar- und Peritonealmakrophagen von Ratten und Hamstern, die gegen die Mineralfasern MMVF10 (Glasswollfasern, mediane Faserlänge ~ 16 µm) und MMVF21 (Steinwollfasern, mediane Faserlänge ~ 19 µm) exponiert waren, wurde in vitro eine „*Frustrated Phagocytosis*“ beobachtet (Dörger et al. 2000, 2001). Bezüglich der Größe der Makrophagen gibt es speziesspezifische Unterschiede. Der Durchmesser der alveolären Makrophagen der Ratten wird in der Literatur mit 10,5 bis 13 µm und der Durchmesser der alveolären Makrophagen des Menschen mit 14 bis 21 µm angegeben (ATSDR 2004; Crapo et al. 1983; IARC 2002; Krombach et al. 1997; Lum et al. 1983; Sebring und Lehnert 1992; Stone et al. 1992).

Vor einem möglichen Makrophagen-vermittelten Abtransport von langen Fasern müssen diese erst zerkleinert werden, ehe sie von Makrophagen aufgenommen werden können. Kürzere Fasern können dagegen gleich von den Makrophagen phagozytiert werden. Beim Vorliegen von persistenten langen Fasern ist die Elimination somit um ein Vielfaches langsamer als bei kürzeren Fasern. Lösliche lange Fasern

können dagegen an Stellen lokaler Korrosion zerbrechen und anschließend abtransportiert werden (Bernstein 2007 a, b; Hammad et al. 1988). In unterschiedlichen Studien ist gezeigt worden, dass nach einer bestimmten Zeit vornehmlich kurze bio-lösliche Fasern vorhanden waren.

Es ist bekannt, dass Fasern und granuläre Partikel in den Pleuraspalt und in den Peritonealraum vordringen können. Der Abtransport findet über die parietalen lymphatischen Stomata statt (Donaldson et al. 2010; IARC 2009; Nagai und Toyokuni 2012). Nach Applikation von Silber-Nanodrähten unterschiedlicher Länge in den Pleuraspalt von Mäusen ist das Ausmaß der Entzündungsreaktion untersucht worden (Schinwald et al. 2012 a). Als kritische Grenze für den Abtransport der Fasern durch die Stomata der Pleura und des Peritoneums ist eine Länge von 5 µm ermittelt worden (Schinwald et al. 2012 b; Schinwald und Donaldson 2012).

Die physikochemischen Prozesse können in einem gewissen Maße in In-vitro-Systemen nachgebildet und bestimmt werden. Die transversale Fragmentierung (Asbestfasern fragmentieren mit der Hauptachse) zeigte sich in vitro (Bauer 1998). Die in vivo stattfindenden physiologischen Clearanceprozesse sind speziesabhängig und können in vitro nicht dargestellt werden (IARC 2002).

3.1.3 Translokation

Ein weiterer wichtiger Aspekt ist die mögliche Interaktion der Fasern mit den Lungenepithelzellen, das anschließende Eindringen in das Interstitium und die mögliche Translokation in die Pleura, das Peritoneum oder entferntere Bereiche.

Der aktive und passive Transport sowie die Translokationswege, ausgehend von der Lunge, sind bisher nicht in allen Einzelheiten bekannt. Eine unvollständige bzw. verhinderte Phagozytose von persistenten Fasern kann dazu führen, dass diese faserförmigen Partikel mit Alveolarzellen interagieren und mithilfe des Druckgradienten durch die Pleuramembranen ins Interstitium transloziert werden. In der Pleura können Fasern durch direkte und indirekte Interaktionen mit den pleuralen Zellen Erkrankungen hervorrufen (Broaddus et al. 2011). Wie Proteine, Zellen und Flüssigkeiten werden auch körperfremde Partikel vom Pleuraraum durch lymphatische Stomata abtransportiert, welche sich zwischen den Mesothelzellen der parietalen Pleura öffnen (Broaddus et al. 2011). Lymphatische Stomata weisen einen Durchmesser von 2 bis 12 µm auf (Donaldson et al. 2013; Li 1993; Li und Li 2003, 2004; Shinohara 1997). Die Stomata befinden sich insbesondere im kaudalen Bereich des Pleura-/Diaphragmabereiches (= Abflussbereich der Lymphe). Der Zustand der Lunge (z. B. Entzündungszustand) verändert zudem den Lymphfluss und somit auch den Abtransport der Fasern in der Pleura maßgeblich. Fasern, die aufgrund ihrer Größe und Starrheit die Stomata nicht passieren können, lagern sich um die Eingänge zum lymphatischen System an und verschließen diese.

Es wird angenommen, dass biopersistente Fasern eher in das Interstitium und in den Pleuraspalt eindringen, wo sie Entzündungen verursachen können, als lösliche Fasern. Lösliche Fasern bleiben hingegen nur wenige Tage an einem Ort, wodurch die entsprechende lokale Dosis um ein Vielfaches geringer ist. Solche Fasern, die zudem aufgrund ihrer Zusammensetzung toxikologisch weitestgehend unwirksam sind, können somit kaum kanzerogen wirksam sein (Oberdörster 2002).

Daher ist die Faserpersistenz und -geometrie für das pathogene Potenzial und damit für die Kanzerogenese maßgeblich (Coin et al. 1992; Goodglick und Kane 1990; Lippmann 1990; McClellan und Hesterberg 1994; Stanton et al. 1981; WHO 1988).

Für Fasern, wie für Silber- und Nickelnanodrähte sowie für MWCNT, ist gezeigt worden, dass eine Faserlänge von 5 bis 8 µm als kritisch anzusehen ist, da solche Fasern zu lang und nicht genügend flexibel sind, um durch die Stomata in das Lymphabflusssystem bei der Maus zu gelangen. Derartige Fasern bleiben stattdessen an den mesothelialen Wandungen hängen (Schinwald et al. 2012 a). Fasern, welche die Stomata passieren, gelangen entlang der lymphatischen Kanäle schließlich zu den regionalen Lymphknoten (Oberdörster 1988; IARC 2002). Bei der Untersuchung des Translokationsverhaltens von biopersistenten Fasern mit nanoskaligem Durchmesser ist beobachtet worden, dass die Fasern nach einer gewissen Latenzzeit von einer Eiweißhülle umschlossen sind. Zudem bilden sich lokale Fasernester, wodurch die Clearance durch phagozytierende Zellen stark behindert ist (Schinwald et al. 2012 a). In einer Studie mit Ratten, denen durch „*intrapulmonary spraying*“ (von den Autoren eigens entwickelte Technik) MWCNT appliziert worden sind, zeigt sich, dass diese Fasern von der Lunge in den Pleuraspalt translozieren und eine Entzündung im Pleuraspalt sowie eine hyperplastische viszerale mesotheliale Proliferation induzieren (Xu et al. 2012). Die Fasern sind vor allem in den alveolären Makrophagen und in den Alveolen der fokal granulomatösen Läsionen lokalisiert. Zudem werden sie in mediastinalen Lymphknoten, in Lebersinusoid-Zellen, in den Wänden der Blutgefäße, in Gehirnzellen und in renalen Tubuluszellen gefunden. Allerdings penetrieren nur sehr wenige der Fasern die viszerale Pleura direkt, und in der parietalen Pleura sind keine Fasern nachweisbar. Daher wurde der lymphatische Fluss von den Autoren als möglicher Translokationsweg postuliert.

In einer Inhalationsstudie mit Mäusen, denen gerade langgestreckte MWCNT (Länge 100 nm–10 µm) appliziert worden sind, können bereits einen Tag nach der Inhalation Fasern in den Makrophagen, mesenchymalen Zellen und im Kollagen in der subpleuralen Region beobachtet werden (Donaldson et al. 2010; Ryman-Rasmussen et al. 2009).

3.2 Biopersistenz

Die Biopersistenz ist für die fibrotischen und kanzerogenen Wirkungen von Fasern von entscheidender Bedeutung.

Biolösliche Fasern mit einer kurzen Halbwertszeit in den Lungen rufen kaum Langzeiteffekte hervor (Oberdörster 2002). Die Ermittlung eines „Grenzwertes“, bei dem eine Faser dauerhaft in der Lunge und in der Pleura vorliegt und somit als biopersistent gilt, könnte daher ein bedeutender Schritt zur Beurteilung des kanzerogenen Potenzials darstellen. Biolösliche Fasern, die keine toxikologisch relevanten Bestandteile besitzen oder biologische Komponenten adsorbieren können, könnten dann als nicht kanzerogen eingestuft werden (Oberdörster 2002). Die chemische Zusammensetzung der Faseroberflächen sowie die Fasergeometrie bestimmen die Löslichkeit maßgeblich (Bernstein et al. 2001, 2005; Bernstein 2007 a, b; Broadus et al. 2011; Fubini 1997; Mossman und Glenn 2011).

Methoden zur Biopersistenzuntersuchung von Glas- und Steinwollfasern sind in einem Regelwerk der Europäischen Gemeinschaft niedergelegt und werden etwa seit dem Jahr 1998 bei der Zulassung angewendet (EU 1997). Die Bestimmung der Biopersistenz erfolgt in der Regel nach inhalativer Applikation oder nach intratrachealer Instillation bei der Ratte. Zur Bestimmung der Biopersistenz können 5-Tage- und 90-Tage-Inhalationsstudien mit Ratten herangezogen werden, bei denen die Halbwertszeit der Fasern ($> 20 \mu\text{m}$ oder $> 5 \mu\text{m}$) in den Lungen ermittelt wird (Bernstein et al. 1996, 2005). Bei dieser Testmethode ist es wesentlich, eine Ratten-inhalierbare Faserfraktion einzusetzen, die in aufwändigen aerodynamischen Verfahren selektiert werden muss. Der mittlere geometrische Durchmesser der WHO-Faserfraktion der Testfasern sollte bei $0,6 \mu\text{m}$ und der entsprechende Wert der Faserfraktion mit Fasern $> 20 \mu\text{m}$ Länge bei $0,8 \mu\text{m}$ liegen. Nur durch Konventionen bezüglich der vorgegebenen Faserdurchmesser lassen sich regulatorisch vergleichbare Informationen zur Faserpersistenz erhalten.

In einer anderen bewährten Methode werden Ratten Fasern in einer wässrigen Suspension ein- bis zweimal an aufeinanderfolgenden Tagen intratracheal appliziert und anschließend wird die in der Lunge verbliebene Menge der Fasern, die länger als $5 \mu\text{m}$ und $20 \mu\text{m}$ sind, bestimmt (Muhle et al. 1994; Oberdörster 2002). Auch hier werden die Fasern vor Versuchsbeginn einem aerodynamischen Sichtungsverfahren unterworfen, um die Durchmesser von $0,6 \mu\text{m}$ bzw. $0,8 \mu\text{m}$ für den Test zu erhalten. Zudem ist es wichtig, die Morphologie der Fasern in der Lunge und in der Pleura nach verschiedenen Zeitabschnitten (2, 14, 30 und 90 Tagen) zu untersuchen und eventuelle Änderungen zu ermitteln, welche auf mögliche Lösungsvorgänge hinweisen. In einer 5-Tage-Inhalationsstudie mit Ratten sind die Halbwertszeiten und die Biopersistenzen verschiedener Faserarten ermittelt worden (Hesterberg et al. 1998) (Tabelle 2). Eine Übersicht über die Ergebnisse der Biopersistenz von etwa 60 verschiedenen Glas- und Steinwollfasern ist bei Bellmann et al. (2010) erschienen.

Zusammenfassend ergibt sich folgende Reihenfolge zum Grad der Biopersistenz: Krokydolith $>$ Amosit $>$ Aluminiumsilikat-, Spezialglasfasern (E-Glas, Glas Typ 475), Steinwolle (traditionelle Variante) $>$ Glaswolle $>$ Schlackenwolle $>$ Steinwolle (weiterentwickelte Variante) (Davis et al. 1996; Hesterberg et al. 1998).

Die Ergebnisse zeigen eine positive Korrelation zwischen ansteigender Biopersistenz (Faserlänge $> 20 \mu\text{m}$) und positiven Tumorbefunden in der Lunge. Studien mit Ratten, denen verschiedene Faser-Arten (Aluminiumsilikat-, Steinwoll-, Glaswoll-, Schlackenwollfasern, Wollastonit, „Bayerfasern“ (biolösliche Mineralfasern, speziell als Testfasern hergestellt), C-Glas, Steinwollfasern Typ G) intraperitoneal appliziert worden sind (Adachi et al. 2001; Bernstein et al. 2001), zeigen ebenfalls eine Korrelation zwischen ansteigender Biopersistenz (mittlere Faserlänge $1,4\text{--}20 \mu\text{m}$) und positiven Tumorbefunden. Nach i.p.-Applikation an Ratten von definierten Faseranzahlkonzentrationen in Suspension kann festgestellt werden, ob Fasern ein kanzerogenes Potenzial haben und wie hoch die relative Wirkstärke ist. Granuläre Stäube verursachen im Gegensatz zu bestimmten Faserarten keine Mesotheliome nach i.p.-Applikation.

Inhalationsstudien mit künstlichen Mineralfasern an Ratten zeigen, dass das Vermögen zur Induktion von Tumoren mit ansteigender Biopersistenz und dem Faseranteil über $20 \mu\text{m}$ zunimmt (Bernstein et al. 2001). Wie oben ausgeführt, dauert der

Tab. 2 Biopersistenz und In-vitro-Löslichkeit verschiedener langer Fasern (> 20 µm) in der Lunge von Ratten (modifiziert nach Hesterberg et al. 1998; Valic 2012)

Faser		Biopersistenz [d] ^a	In-vitro- Löslichkeitsrate [ng/(h cm ²)] ^b	Lungen- erkrankungen	
				Fibrose	Tumor
Asbest	Krokydolith	817	< 1	+	+
	Amosit	418	< 1	+	+
	Chrysotil	0,3 – 11,4 ^c			
Glasfaser	E-Glas	79	9	+	+
Aluminiumsili- kat-Faser	RCF1a	55	3	+	+
Glasfaser	Glas Typ 475	49	12	+	+ / – ^d
Mineralwolle	Steinwolle MMVF12	67	20	+	–
Glasfaser	JM 901	14,5	300	–	–
	Certain Teed B Glas	9	100	–	–
Mineralwolle	Schlackenwolle MMVF11	9	400	–	–
	HT-Steinwolle	6	59	–	–

^a Biopersistenz ermittelt als gewichtete Halbwertszeit der Fasern in Tagen, welche angibt, nach wie vielen Tagen 50 % der Fasern aus der Lunge eliminiert sind

^b In-vitro-Löslichkeitsrate bei pH = 7,4 (Eastes und Hadley 1994)

^c Bernstein et al. 2004, 2011; in Abhängigkeit des Materials sehr divergierende Angaben publiziert

^d positiver Befund bei Hamstern, aber nicht bei Ratten

Abtransport langer, biobeständiger Fasern wesentlich länger als der kurzer Fasern. Da durch diesen Effekt bei langen Fasern eine wesentlich höhere lokale Dosis zu erwarten ist (Dosis definiert als das Zeitintegral der lokalen Konzentration), ist davon auszugehen, dass dann auch das krebserzeugende Potential einer langen Faser höher ist als dasjenige vieler kurzer, die sich aneinander gereiht zur Länge der langen Fasern addieren (IARC 2002). Gleichwohl muss darauf hingewiesen werden, dass auch kurze Fasern ein kanzerogenes Potenzial aufweisen können und die Faserlänge kein Ausschlusskriterium ist (Dodson et al. 1990, 2003).

Für SWCNT ist eine gewisse Biodegradation nachgewiesen worden, wenn die Oberfläche Carboxylsäuregruppen enthält (oxidierende Umgebung). CNT mit anderer Oberflächenfunktionalisierung zeigen diesen Effekt nicht (Allen et al. 2008; Kagan et al. 2010; Liu et al. 2010). Die Oberflächenmodifikationen werden als ursächlich für eine gewisse Biolöslichkeit von CNTs angesehen (Donaldson et al. 2013). Die Degradation von vier verschiedenen MWCNT ohne Oberflächenfunk-

tionalisierung ist im Vergleich zu Amosit, Chrysotil und einer löslichen Glasfaser in vitro in Gamble-Lösung mit pH 4,5 über einen Zeitraum von bis zu 24 Wochen untersucht worden (Osmond-McLeod et al. 2011). Nur eine der untersuchten MWCNT zeigte nach 3 Wochen einen Masseverlust von 30 %; von der dritten bis zur 24. Woche war kein weiterer Masseverlust erkennbar. Der Masseverlust war mit einem verringerten Anteil von langen CNT und einer geringen entzündlichen Wirkung nach i. p.-Injektion bei der Maus verbunden. Die Autoren ordnen 20 % des Masseverlustes der Messmethode (Filtern und Wiegen der suspendierten Proben) zu. Auch Krokydolith hatte in dieser Studie einen Masseverlust von ca. 25 %.

Bedeutung der Kinetik für die Kanzerogenität in verschiedenen Spezies

Für In-vivo-Untersuchungen werden hauptsächlich Ratten als Modell verwendet. Hierbei ist zu bedenken, dass die Halbwertszeit biopersistenter Fasern höher sein kann als die Lebensdauer von Ratten und Hamstern, jedoch kürzer als die Lebensdauer des Menschen (Berry 1999).

Die verschiedenen Spezies reagieren zudem unterschiedlich sensitiv. Aus der Literatur geht hervor, dass die Sensitivität gegenüber Fasern in der Lunge folgendermaßen abnimmt: Mensch > Ratte > Hamster (Wardenbach et al. 2005; IARC 2002). Hamster sind gegenüber der Entstehung von malignen Pleuramesotheliomen hingegen sensitiver als Ratten (IARC 2002). In einer subchronischen Inhalationsstudie mit Hamstern, die gegen Aluminiumsilikatfasern (RCF-1) exponiert worden sind, wird eine erhöhte Inzidenz für maligne Pleuramesotheliome beobachtet. Dabei liegen die Fasern stark transloziert vor und sammeln sich vor allem im Pleuraspalt an. Hamster besitzen zudem eine erhöhte Proliferation von Mesothelzellen im Vergleich zu Ratten (Gelzleichter et al. 1999).

Weitere Unterschiede zwischen Ratten, Hamstern und Menschen sind die Einatembarkeit von Fasern und die unterschiedliche Translokation, welche in Hamstern ausgeprägter erscheint (Dai und Yu 1998; Gelzleichter et al. 1999). Zudem ist die viszerale Pleura bei Nagetieren dünner und besteht vorrangig aus einer Mesothelschicht und einer Untermembran, welche direkt auf den peripheren Alveolen aufliegt. Die Untermembran ist ein schmales submesotheliales Gewebe und führt keine pleuralen Blutgefäße. Daher verläuft die Translokation von Fasern aus der Lunge in die Pleura bei Menschen und Nagern vermutlich unterschiedlich. Die Lokalisierung, Akkumulation und auch die Wechselwirkungen der Fasern an der parietalen Pleura scheinen jedoch gleich zu sein (Broadbuss et al. 2011; Zocchi 2002).

4 Erfahrungen beim Menschen

In einem Übersichtsartikel wird nur eine geringe Evidenz für einen Zusammenhang zwischen der Exposition gegen synthetische Mineralfasern und der Diagnose eines Mesotheliomes gefunden (Boffetta et al. 2014). Es ist darauf hinzuweisen, dass diese Übersichtsarbeit nicht die derzeitigen Qualitätsanforderungen an ein methodisch adäquates systematisches Review erfüllt; u. a. fehlen eine systematische Literatursuche in mehreren elektronischen Datenbanken, eine dokumentierte unabhängige

Doppelsichtung der gefundenen Literatur und eine standardisierte Qualitätsbewertung der berücksichtigten Studien. Die Autoren der Übersichtsarbeit weisen darauf hin, dass in den einbezogenen Kohortenstudien insgesamt sechs Mesotheliom-Fälle zu finden sind, von denen drei allerdings nach einer Asbest-Koexposition aufgetreten sind. Drei von vier identifizierten Fallkontrollstudien finden ein erhöhtes Mesotheliom-Risiko bei Beschäftigten, die gegen synthetische Mineralfasern exponiert gewesen sind. Allerdings weisen die Autoren darauf hin, dass eine Restwirkung durch den Störfaktor Asbest die erhöhten Risiken erklären könnte.

Auch für Lungenkrebs findet sich auf der Grundlage bisher veröffentlichter Übersichtsarbeiten (vgl. IARC 2002, 2009) kein eindeutiger Beleg für einen Zusammenhang mit der beruflichen Exposition gegen synthetische Mineralfasern. In einem Review mit Metaanalyse wird ein statistisch signifikantes, aber nur gering erhöhtes Lungenkrebsrisiko bei Exposition gegenüber synthetischen Mineralfasern (Steinwolle und Glaswolle) gezeigt (Lipworth et al. 2009). Die Autoren weisen darauf hin, dass die geringe Ausprägung der Risikoerhöhung, die fehlende Risikoerhöhung bei Anwendern, das Fehlen einer Dosis-Wirkungs-Beziehung, eine wahrscheinliche Unsicherheit der Expositions-Erfassung und der Einfluss der Störfaktoren Rauchen und Asbestexposition nicht auf eine krebserzeugende Wirkung von synthetischen Mineralfasern schließen lassen.

Bisherige negative epidemiologische Befunde sind aus folgenden Gründen zurückhaltend zu interpretieren: Zum einen sind die Expositionen in den bisherigen Studien deutlich geringer als in positiven epidemiologischen Studien zu Asbest. Des Weiteren sind die Beobachtungszeiten der bisherigen epidemiologischen Studien über synthetische Mineralfasern teilweise zu kurz, als dass sich bei einer anzunehmenden, vergleichbar langen Latenzzeit wie nach Asbestexposition derzeit bereits gesicherte Aussagen treffen ließen. Schließlich ist eine Betrachtung der synthetischen Mineralfasern als Gesamtgruppe aufgrund stoffspezifischer Wirkunterschiede eingeschränkt aussagefähig. Auf die stoffspezifischen epidemiologischen Erkenntnisse wird in den Einzelbewertungen der Fasern eingegangen.

5 Tierexperimentelle Befunde und In-vitro-Untersuchungen

Tierexperimentelle Studien und In-vitro-Untersuchungen und deren Ergebnisse werden in den Einzelbewertungen der Fasern aufgeführt und diskutiert.

6 Zusammenfassende Betrachtung

Die Geometrie der Fasern beeinflusst die intrapulmonale Deposition, die Translokation und die Clearance, insbesondere Aufnahme durch phagozytierende Zellen. Form und chemische Zusammensetzung der Fasern beeinflussen ihren Abbau sowie die Wechselwirkung mit Biomolekülen und Zellmembranen und spielen eine wichtige Rolle in der Faserpathogenität.

Obwohl dem Organismus bei Exposition gegen Fasern die gleiche Palette biologischer Abwehrmechanismen zur Verfügung steht wie bei den granulären biobestän-

digen Partikeln, unterscheidet sich die gesundheitsschädliche Wirkung der beiden Partikelformen besonders an der Pleura. So wird die Dosis-Wirkungsbeziehung wesentlich durch Unterschiede im Depositionsverhalten und der Eliminationskinetik beeinflusst. Indes spielen auch Besonderheiten der Faserform, ihrer Oberflächenreaktivität und ihrer chemischen Zusammensetzung eine Rolle und haben somit Konsequenzen für die Einstufung und für die Grenzwertsetzung.

Kanzerogene Wirkung

In einer Vielzahl epidemiologischer Studien ist nachgewiesen worden, dass die inhalative Exposition gegen Faserstäube von Asbest und Erionit Lungen-, Kehlkopf- und Ovarialtumoren beim Menschen sowie Mesotheliome der Pleura und in einigen Fällen des Peritoneums und des Perikards verursachen (IARC 2009; NTP 2010). Diese Wirkung ist auch im Tierexperiment bestätigt worden. Bei Nagetieren induzieren darüber hinaus auch bestimmte synthetische Fasern maligne Lungentumoren und Mesotheliome. Nach heutigem Kenntnisstand werden diese Tumortypen jedoch beim Menschen nicht beobachtet. Einer der Gründe könnte sein, dass die erforderliche Latenzzeit noch nicht erreicht ist; des Weiteren waren die Expositionen in den bisherigen Studien deutlich geringer als in positiven epidemiologischen Studien zu Asbest.

Die Bewertung der vorliegenden Daten ergibt, dass die Tumorentstehung in der Lunge und, bei schlechterer experimenteller Datenlage, auch an den serösen Häuten (Pleura, Peritoneum, Perikard) hauptsächlich eine Folge entzündungsbedingter Vorgänge ist. Bei Einschränkung der Faser clearance werden Makrophagen, Alveolarzellen und Mesothelzellen zur verstärkten Freisetzung entzündungsfördernder Cytokine und Wachstumsfaktoren veranlasst, mit der Folge einer chronischen Entzündung und Zellproliferation. Dies gilt auch bei einer fokalen Einwirkung von Fasern, wobei lokale Entzündung und Zellproliferation auftreten. Die Generierung von Radikalen, reaktiven Sauerstoff- und Stickstoffspezies sowie Chlorradikalen, führt dabei zu indirekt genotoxischen Wirkungen. Neuere Untersuchungen legen nahe, dass die Beeinträchtigung der Clearance auch im Pleuraraum als ein wesentlicher Wirkmechanismus anzusehen ist.

Weitere Mechanismen sind von der Faserart abhängig. Zu diesen zählen: I) die Bildung von ROS und RNS durch die Fasern selbst, II) die Aufnahme der Fasern in die Zielzellen mittels Endozytose, wobei ROS und RNS intrazellulär freigesetzt werden, sodass es zu genetischen und epigenetischen Veränderungen kommt, und III) die Stimulierung von Zellrezeptoren und Inflammasomen, die ihrerseits intrazelluläre Signalwege aktivieren und dadurch Impulse der Zellproliferation und Apoptose-Resistenz setzen. Die Einflüsse dieser Mechanismen sind nach der derzeitigen Datenlage nicht quantitativ abzuschätzen.

Prinzipiell sind bei Fasern die Ableitung und die Einhaltung eines Grenzwertes möglich, der eine chronische Entzündung sowie proliferationsstimulierende Effekte bei Hemmung der Apoptose verhindert, u. a. auf Basis einer hinreichend geringen Biopersistenz. Eine Besonderheit von schwerlöslichen Fasern ist darin begründet, dass die Reinigungssysteme der Lunge und der serösen Häute nicht wegen voluminöser Überladung der Makrophagen an die Grenzen ihrer Funktionsfähigkeit stoßen, sondern aufgrund der besonderen Geometrie der Fasern:

- schwerlösliche rigide Fasern können sich in den Atemwegen verhaken und lokal in die Zellen eindringen
- lange Fasern können schlechter vom mukoziliären Förderband abtransportiert oder im Pleuraraum durch die Stomata eliminiert werden
- lange Fasern, die den Durchmesser der phagozytierenden Zellen (Makrophagen u. a.) überschreiten, können zur „frustranen Phagozytose“ führen

Fasern werden je nach Eigenschaften und Datenlage in verschiedene Kategorien für Kanzerogene eingestuft. Die Einstufung in die Kategorie 4 und eine Ableitung eines MAK-Wertes könnten für solche Fasern erfolgen, die in Höhe des abzuleitenden MAK-Wertes keine chronische Entzündung in der Lunge oder in der Pleura und keine proliferative Überstimulierung bei Apoptose-Hemmung hervorrufen.

Aus Gründen des vorbeugenden Gesundheitsschutzes werden daher zunächst alle anorganischen Faserstäube als krebbsverdächtig angesehen außer es liegen Untersuchungsergebnisse aus Kanzerogenitätsversuchen vor, die zu einer anderen Einstufung führen.

Bei einer hinreichenden Biolöslichkeit von Fasern in der Lunge und im Pleuraraum erfolgt keine Einstufung.

MAK-Wert. Ein Grenzwert für Fasern soll bewirken, dass es auch beim Menschen nach chronischer Exposition nicht zu einer faserbedingten Entzündung und den daraus resultierenden chronischen entzündlichen und proliferativen Gewebeveränderungen in der Lunge und der Pleura kommt. Zu den Spätfolgen der entzündlichen Veränderungen zählen neben der Tumorentwicklung auch die Lungenfibrose, die Pleurafibrose und die Bildung von Pleuraplaques.

Weitere Endpunkte wie **Spitzenbegrenzung, Keimzellmutagene Wirkung, Schwangerschaftsgruppe und Sensibilisierung** werden für die einzelnen Faserstäube bewertet und festgelegt.

Anhang

In den Abschnitten 2 und 3 wurde mehrmals vergleichend auf den relativ gut untersuchten Asbest hingewiesen, dies mit der ausdrücklichen Einschränkung, dass Asbest zwar nicht Gegenstand der Begründung „Faserstäube, anorganisch“ ist, aber als Anhaltspunkt für die Frage dienen kann, inwieweit künstliche Mineralfasern ähnliche Effekte zeigen.

Im Folgenden werden die Gen-Veränderungen dargestellt, welche bei Asbest-induzierten Lungenkarzinomen und Mesotheliomen häufig und somit als vermutlich kausal identifiziert wurden, da diese auch bei anderen Faserstaub-Expositionen zu beachten sein könnten. Die zwei folgenden Tabellen 3 und 4 und die erklärenden Texte erweitern die Datensätze, die in der Übersicht der IARC von 2009 dargestellt sind. Darüber hinaus wird ein Zusammenhang hergestellt zwischen faserinduzierter Entzündung und epigenetischen Veränderungen.

Genveränderungen bei Lungentumoren und Mesotheliomen des Menschen als Folge der Exposition gegen Asbestfasern

Während der oft langen Latenzzeit bis zur klinischen Diagnose der Krebserkrankung kommt es zu einer Vielzahl genetischer und epigenetischer Veränderungen. Zu diesen können gehören:

- Aktivierung der Gene für Zellwachstums- und Regulationsmechanismen
- Mutationen und Amplifikationen von Onkogenen
- Inaktivierung von Tumorsuppressor-Genen, die für die spezifischen histopathologischen Typen dieser Tumoren charakteristisch sein können (IARC 2009).

Um die genetischen Veränderungen in beiden Tumorarten, den Lungentumoren und Mesotheliomen, zu identifizieren, ist eine Reihe von Methoden angewandt worden: vergleichende genomische Hybridisierung, genomweite Transkriptomanalyse, Umsetzung neuer Sequenzdaten in Biochips für Expressionsanalysen von Genen, DNA-Zytometrie sowie Gen-Promotoranalyse (Balsara et al. 1999; Björkqvist et al. 1997; Gordon et al. 2005; Krismann et al. 2002; Lopez-Rios et al. 2006; Murphy und Testa 1999; Singhal et al. 2003; Thomas et al. 2007).

Genveränderungen beim Lungenkrebs

Der Lungenkrebs des Menschen kann in zwei histologische Subtypen unterteilt werden, bei denen genetische Veränderungen in unterschiedlichen Häufigkeiten auftreten (s. Tabelle 3): in das kleinzellige und das nicht-kleinzellige Bronchialkarzinom.

Molekulare Veränderungen, die durch Asbest induziert werden, sind in nicht-kleinzelligen Karzinomen die Einführung aktivierender Punktmutationen im *KRAS*-Onkogen (Nelson et al. 1999) und Heterozygotie-Verlust sowie Punktmutationen im *TP53*-Tumorsuppressor-Gen des Lungen- und Larynxkrebses (IARC 2009; Nymark et al. 2008).

Genveränderungen beim Mesotheliom

Die oben genannten Analysen ergeben, dass in Mesotheliomen des Menschen Genverluste, Gen-Inaktivierungen, aber auch Gen-Amplifikationen häufig auftreten und folgende Chromosomenorte betroffen sind: 1p, 3p, 4p, 4q, 9p, 13q, 15q, 17p, 22q.

Da die Latenzzeiten der Mesotheliom-Entstehung 40 Jahre und mehr betragen können (Bianchi und Bianchi 2007), ist anzunehmen, dass sich die vielfältigen chromosomalen Veränderungen schrittweise nach dem Prinzip des Wachstumsvorteils herausselektieren.

Weitere genetische und epigenetische Veränderungen in malignen Mesotheliomen sind in Tabelle 4 aufgeführt. Die in den Tabellen 3 und 4 und den Abbildungen 6 und 7 verwendeten Gen- und Proteinbezeichnungen sowie ihre Akronyme sind die im internationalen Schrifttum üblichen. Sie sind den verbindlichen Nomenklaturprägenden und akzeptierten Datenbanken „Genome Nomenklature“ (HUGO) und

Tab. 3 Genetische und epigenetische Veränderungen in Bronchialkarzinomen des Menschen (modifiziert nach IARC 2009)

Funktionelle Veränderung	Gen-Target	Histologischer Lungenkrebs-Typus	
		kleinzellig	nicht kleinzellig
Stimulation des autokrinen Wachstums	Wachstumsfaktoren und Rezeptoren	<i>GRP/GRP-Rezeptor</i> <i>SCF/KIT</i>	<i>TGFA/EGFR</i> <i>HGF/MET</i>
Onkogen-Aktivierung	<i>RAS</i> -Mutationen	< 1 %	15–20 %
	<i>MYC</i> -Überexpression	15–30 %	5–10 %
Inaktivierung der Tumorsuppressor-Gene	<i>TP53</i> -Mutation	~ 90 %	~ 50 %
	<i>RB1</i> -Mutation	~ 90 %	15–30 %
	<i>CDKN2A</i> -Inaktivierung	0–10 %	30–70 %
	<i>FHIT</i> -Inaktivierung	~ 75 %	50–75 %
Apoptose-Resistenz	<i>BCL2</i> -Expression	75–95 %	10–35 %
Genetische Instabilität	Mikrosatelliten-Instabilität	~ 35 %	~ 22 %

BCL2: B-cell CLL/lymphoma 2; *CDKN2A*: cyclin-dependent kinase inhibitor 2A; *EGFR*: epidermal growth factor receptor; *FHIT*: fragile histidine triad (dinucleosidetriphosphatase); *GRP*: gastrin-releasing peptide; *HGF*: hepatocyte growth factor; *KIT*: v-kit Hardy-Zuckerman 4 feline sarcoma viral oncogene homolog; *MET*: met proto-oncogene; *MYC*: v-myc avian myelocytomatosis viral oncogene homolog; *RAS*: rat sarcoma viral oncogene homolog; *RB1*: RB transcriptional corepressor 1; *SCF*: stem cell factor; *TGFA*: transforming growth factor- α ; *TP53*: tumor protein p53.

„Universal Protein Resource“ entnommen. Äquivalente dieser Datenbanken in Deutsch gibt es nicht.

Aus den Tabellen 3 und 4 geht hervor, dass Schlüsselmutationen („driver mutations“) in Asbest-induzierten Lungentumoren und Mesotheliomen selten und darüber hinaus unterschiedlich sind. So ergeben neuere, gezielte „Next-Generation“-Sequenzierungen von Mesotheliom-Biopsien (Lo Iacono et al. 2014) ein komplexes Bild genetischer Veränderungen mit zahlreichen Variationen auf vorzugsweise zwei Signalwegen, dem der TP53/DNA-Reparatur sowie dem der Phosphatidylinositol-3-Kinase/AKT-Kinase. Letztere kontrolliert u. a. den Glukosestoffwechsel, Prozesse der Zellproliferation, die Angiogenese und die Apoptose-Resistenz. Weiterhin ergaben Gesamt-Exom-Analysen von pleuralen Mesotheliomen (Guo et al. 2015) in mehr als 50 % der Fälle inaktivierende Mutationen in den Schaltelementen zweier Signalwege, solchen der MAP-Kinase (Mitogen-aktivierte Proteinkinase) und solchen der WNT-Kaskade („wingless type“-Signalkaskade). Insbesondere sind die Gene *BAP1*, *NF2*, *CDKN2A* und *CUL* betroffen, wobei homozygote Deletionen dominieren. Zahlreiche andere Gene zeigen ebenfalls Mutationen; die Gen-Orte sind jedoch zufällig und singulär, d. h. jeder Tumor ist eine einzigartige Konstellation veränderter Gene. Somit zeichnet sich die Gesamtheit der untersuchten Mesotheliome dadurch aus, dass sie einerseits wenige typische Mutationen aufweisen und andererseits auch Mutationen, die über viele Gen-Orte verstreut liegen. In Übereinstim-

Tab. 4 Genetische und epigenetische Veränderungen in Mesotheliomen des Menschen (modifiziert nach IARC 2009)

Funktionen	Gen-Target	Änderung
Stimulation des autokrinen Wachstums	Wachstumsfaktoren und Rezeptoren	Hochregulierung von <i>HGF/MET</i> , <i>EGFR</i> , <i>PDGF</i> , <i>IGF1</i>
Tumorsuppression	<i>CDKN2B</i> , <i>CDKN2A</i> , <i>CDKN2A/ARF</i> <i>NF2</i> , <i>BAP1</i> <i>RASSF1</i> , <i>GPC3</i>	Inaktivierung; Deletion <i>NF2</i> -Deletion; <i>NF2</i> -, <i>BAP1</i> -Mutationen Hypermethylierung
Angiogenese	<i>VEGF</i>	Hochregulierung
Apoptose	<i>AKT</i> <i>BCL2L1</i>	Aktivierung Hochregulierung

CDKN2A/ARF: cyclin-dependent kinase inhibitor 2A with alternate first exon containing an alternate open reading frame (*ARF*); *AKT*: v-akt murine thymoma viral oncogene homolog; *BCL2L1*: *BCL2*-like 1; *BCL2*: B-cell CLL/lymphoma 2; *BAP1*: *BRCA1* associated protein (ubiquitin carboxy-terminal hydrolase); *CDKN2A*: cyclin-dependent kinase inhibitor 2A; *CDKN2B*: cyclin-dependent kinase inhibitor 2B (P15, inhibits CDK4); *EGFR*: epidermal growth factor receptor; *HGF*: hepatocyte growth factor; *GPC3*: glypican 3; *IGF1*: insulin-like growth factor 1; *MET*: met proto-oncogene; *NF2*: merlin; *PDGF*: platelet-derived growth factor; *RASSF1*: Ras association (RalGDS/AF-6) domain family member 1; *VEGF*: vascular endothelial growth factor A.

mung mit früheren, punktuellen Untersuchungen sind nicht nur Mesotheliome verschiedener Personen von dieser genetischen Heterogenität betroffen, sondern auch das Mesotheliom ein- und desselben Tumorträgers („intratumorale Heterogenität“; Carbone et al. 2015).

Bei nicht-kleinzelligen Lungentumoren Asbest-exponierter Patienten überwogen Mutationen in den Genen *TP53*, *EGFR*, *KRAS* und *CDKN2A*, dagegen erweist sich das in Mesotheliomen nahezu regelmäßig inaktivierte *NF2*-Gen als unverändert (Andujar et al. 2013; Sekido et al. 1995). Allerdings sind die genetischen Schäden bei Lungentumoren sehr häufig nicht allein durch Asbest, sondern auch durch andere exogene Kanzerogene, insbesondere solche des Tabakrauchs, ausgelöst. Diese Doppelbelastung resultiert in homozygoten Deletionen wie auch in hypermethylierten Promotorregionen. Punktmutationen werden selten beobachtet (Andujar et al. 2010; Krauss et al. 2006).

Zur mechanistischen Brücke zwischen faserinduzierter Entzündung und epigenetischen Veränderungen

Die Genveränderungen, die aufgrund von entzündungsbedingten reaktiven Sauerstoff- und Stickstoff-Spezies auftreten, sind in der Literatur vielfach dokumentiert. Der Weg, der von diesen reaktiven Intermediaten zur DNA-Hypermethylierung führt, bedarf jedoch einer Erklärung. Zahlreiche Publikationen belegen, dass bei entzündlichen Prozessen die Enzyme NADPH-Oxidase und Myeloperoxidase akti-

viert werden (Asahi et al. 2010; Babior 2004; Klebanoff 2005; Poulos 2014), die kooperativ aus Halogen-Anionen (z. B. Cl) reaktive Intermediate (HOCl) bilden, welche ihrerseits Cytosinbasen der DNA in Position 5 halogenieren. Diese Substitution imitiert – entsprechend der physikochemischen Eigenschaften des Chlorliganden (Summe von van der Waals-Radius und Bindungslänge; Valinluck und Sowers 2007; Valinluck et al. 2006) – eine Methylgruppe. Da 5-Methylcytosine in sogenannten CpG-Inseln der Gen-Promotoren die epigenetische Kontrolle eines Gens bestimmen, d. h. Gen-Expression oder -Abschaltung vermitteln, unterbinden zufällige Chlorierungen jede geordnete Genregulation. Die Störung kann sowohl eine Aktivierung von Protoonkogenen zu Krebsgenen nach sich ziehen als auch Tumorsuppressor-Gene ausschalten („gene silencing“). Hinzu kommt, dass 5-Methyl-CpG-Inseln erbliche DNA-Modifikationen sind und somit bei der DNA-Replikation die Neu-Methylierung der anfänglich unmethylierten DNA-Tochterstränge erzwingen. Das bedeutet, dass langanhaltende Entzündungen über Zellgenerationen hinweg kumulativ DNA-Veränderungen auslösen, deren funktionelle Auswirkungen die maligne Entartung vorantreiben. Dabei greifen genetische Veränderungen, wie Mutationen, Deletionen, Insertionen, und epigenetische Fehlleistungen ineinander. Die epigenetischen Fehlleistungen sind nicht allein auf Signalsetzungen wie Pseudo-DNA-Methylierung beschränkt, sie erstrecken sich auch auf die Ablesung dieser unkorrekten Signale durch Erkennungsproteine sowie auf gestörte Mechanismen der Signalentfernung (Baylin und Jones 2011; Shen und Laird 2013).

7 Literatur

- Adachi S, Kawamura K, Takemoto K (2001) A trial on the quantitative risk assessment of man-made mineral fibers by the rat intraperitoneal administration assay using the JFM standard fibrous samples. *Ind Health* 39: 168–174
- Akuta T, Zaki MH, Yoshitake J, Okamoto T, Akaike T (2006) Nitrate stress through formation of 8-nitroguanosine: Insights into microbial pathogenesis. *Nitric Oxide* 14: 101–108
- Albrecht C, Borm PJ, Unfried K (2004) Signal transduction pathways relevant for neoplastic effects of fibrous and non-fibrous particles. *Mutat Res* 553: 23–35
- Allen BL, Kichambare PD, Gou P, Vlasova II, Kapralov AA, Konduru N, Kagan VE, Star A (2008) Biodegradation of single-walled carbon nanotubes through enzymatic catalysis. *Nano Lett* 8: 3899–3903
- Andujar P, Lecomte C, Renier A, Fleury-Feith J, Kheuang L, Daubria J, Janin A, Jaurand MC (2007) Clinico-pathological features and somatic gene alterations in refractory ceramic fibre-induced murine mesothelioma reveal mineral fibre-induced mesothelioma identities. *Carcinogenesis* 28: 1599–1605
- Andujar P, Wang J, Descatha A (2010) P161K4A inactivation mechanism in non-small-cell lung cancer patients occupationally exposed to asbestos. *Lung Cancer* 67: 23–30
- Andujar P, Pairon JC, Renier A, Descatha A, Hysi I, Abd-Alsamad J, Billon-Galland MA, Blons H, Clin B, Danel C, Debrosse D, Galateau-Salle F, Housset R, Laurent-Ouig P, Le Pimpec-Barthes F, Letourneux M, Monnet J, Regnard JF, Validire P, Zucman-Rosse J, Jaurand MC, Jean D (2013) Differential mutation profiles and similar intronic TP53 polymorphisms in asbestos-related lung cancer and pleural mesothelioma. *Mutagenesis* 28: 323–331

- Asahi T, Kondo H, Masuda M, Nishino H, Aratani Y, Naito Y, Yoshikawa T, Hisaka S, Kato Y, Osawa T (2010) Chemical and immunochemical detection of 8-halogenated deoxyguanosines at early stage inflammation. *J Biol Chem* 285: 9282–9291
- Asgharian B, Yu CP (1988) Deposition of inhaled fibrous particles in the human lung. *J Aerosol Med* 1: 37–50
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry) (2004) Toxicological profile for synthetic vitreous fibers. US Department of Health and Human Services, Public Health Service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Atlanta, GA, USA
<https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/index.asp>
- Ault JG, Cole RW, Jensen CG, Jensen LCW, Bachert LA, Rieder CL (1995) Behavior of crocidolite asbestos during mitosis in living vertebrate lung epithelial cells. *Cancer Res* 55: 792–798
- AGS (Ausschuss für Gefahrstoffe) (2002) Faserstäube (TRGS 521) Bundesarbeitsblatt 5 (2002)
<http://www.baua.de/de/Themen-von-A-Z/Gefahrstoffe/TRGS/TRGS.html>
- AGS (Ausschuss für Gefahrstoffe) (2008) Abbruch-, Sanierungs- und Instandhaltungsarbeiten mit alter Mineralwolle. (TRGS 521) HrgGMBI Nr 14, 279–286 vom 25.03.2008
<http://www.baua.de/de/Themen-von-A-Z/Gefahrstoffe/TRGS/TRGS.html>
- AGS (Ausschuss für Gefahrstoffe) (2010) Tätigkeiten mit Hochtemperaturwolle (TRGS 558)
<http://www.baua.de/de/Themen-von-A-Z/Gefahrstoffe/TRGS/TRGS.html>
- Aust AE, Cook PM, Dodson RF (2011) Morphological and chemical mechanisms of elongated mineral particle toxicities. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev* 14: 40–75
- Babior BM (2004) NADPH Oxidase. *Curr Opin Immunol* 16: 42–47
- Balsara BR, Bell DW, Sonoda G, De Rienzo A, du Manoir S, Jhanwar SC, Testa JR (1999) Comparative genomic hybridization and loss of heterozygosity analyses identify a common region of deletion at 15q11.1-15 in human malignant mesothelioma. *Cancer Res* 59: 450–454
- Baris YI, Artvinli M, Sahin AA, Sebastien P, Gaudiche A (1987) Diffuse lung fibrosis due to fibrous zeolite (erionite) exposure. *Eur J Respir Dis* 70: 122–125
- Baris B, Demir AU, Sheva V, Karakoca Y, Kisacik G, Baris YI (1996) Environmental fibrous zeolite (erionite) exposure and malignant tumors other than mesothelioma. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 15: 183–189
- Bauer JF (1998) Interaction of glass fiber with physiological fluids: The role of surface. In: *Proceedings of XVIII International Congress on Glass*, San Francisco, American Ceramic Society, 1–10
- Baylin SB, Jones PA (2011) A decade of exploring the cancer epigenome - biological and translational implications. *Nat Rev Cancer* 11: 726–734
- Beckman JS, Koppenol WH (1996) Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and the ugly. *Am J Physiol* 271: 1424–1437
- Bellmann B, Schaeffer HA, Muhle H (2010) Impact of variations in the chemical composition of vitreous mineral fibers on the biopersistence in rat lungs and consequences for regulation. *Inhal Toxicol* 22: 817–827
- Bermudez E, Mangum JB, Moss OR, Wong BA, Everitt JI (2003) Pleural dosimetry and pathobiological responses in rats and hamsters exposed subchronically to MMVF 10a fiberglass. *Toxicol Sci* 74: 165–173
- Bernstein DM (2007 a) Synthetic vitreous fibers: a review toxicology, epidemiology and regulations. *Crit Rev Toxicol* 37: 839–886
- Bernstein DM (2007 b) Special-purpose fiber type 475 – Toxicological Assessment. *Inhal Toxicol* 19: 49–159

- Bernstein DM, Morscheidt C, Grimm HG, Thévenaz P, Teichert U (1996) Evaluation of soluble fibers using the inhalation biopersistence model, a nine-fiber comparison. *Inhal Toxicol* 8: 345–385
- Bernstein DM, Sintes JMR, Ersboell BK, Kunert J (2001) Biopersistence of synthetic mineral fibers as a predictor of chronic intraperitoneal injection tumour response in rats. *Inhal Toxicol* 13: 851–875
- Bernstein DM, Rogers R, Smith P (2004) The biopersistence of Brazilian chrysotile asbestos following inhalation. *Inhal Toxicol* 16: 745–761
- Bernstein DM, Castranova V, Donaldson K, Fubini B, Hadley J, Hesterberg T, Kane A, Lai D, McConnell EE, Muhle H, Oberdörster G, Olin S, Warheit DB (2005) Testing of fibrous particles: short-term assays and strategies. *Inhal Toxicol* 17: 497–537
- Bernstein DM, Rogers RA, Sepulveda R, Donaldson K, Schuler D, Gaering S, Kunzendorf P, Chevalier J, Holm SE (2011) Quantification of the pathological response and fate in the lung and pleura of chrysotile in combination with fine particles compared to amosite-asbestos following short-term inhalation exposure. *Inhal Toxicol* 15: 101–128
- Berry G (1999) Models for mesothelioma incidence following exposure to fibres in terms of timing and duration of exposure and the biopersistence of the fibres. *Inhal Toxicol* 11: 111–130
- Bhirde AA, Patel V, Gavar J, Zhang G, Sousa AA, Masedunskas A, Leapman RD, Weigert R, Gutkind JS, Rusling JF (2009) Targeted killing of cancer cells in vivo and in vitro with EGF-directed carbon nanotube-based drug delivery. *ACS Nano* 3: 307–316
- Bianchi C, Bianchi T (2007) Malignant mesothelioma: Global incidence and relationship to asbestos. *Ind Health* 45: 379–387
- Björkqvist AM, Tammilehto L, Anttila S, Mattson K, Knuutila S (1997) Recurrent DNA copy number changes in 1q, 4q, 6q, 9q, 13q, 14q and 22q detected by comparative genomic hybridization in malignant mesothelioma. *Br J Cancer* 75: 523–527
- Boffetta P, Donaldson K, Moolgavkar S, Mandel JS (2014) A systematic review of occupational exposure to synthetic vitreous fibers and mesothelioma. *Crit Rev Toxicol* 44: 436–449
- Boylan AM, Sanan DA, Sheppard D, Broaddus VC (1995) Vitronectin enhances internalization of crocidolite asbestos by rabbit pleural mesothelial cells via the integrin alpha v beta 5. *J Clin Invest* 96: 1987–2001
- Braakhuis HM, Park MV, Gosens I, De Jong WH, Cassee FR (2014) Physicochemical characteristics of nanomaterials that affect pulmonary inflammation. *Part Fibre Toxicol* 11: 18
- Breuer W, Epsztejn S, Millgram P, Cabantchik IZ (1995) Transport of iron and other transition metals into cells as revealed by a fluorescent probe. *Am J Physiol* 268: 1354–1361
- Broaddus VC, Everitt JJ, Black B, Kane AB (2011) Non-neoplastic and neoplastic pleural endpoints following fiber exposure. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev* 14: 153–178
- Brody AR, Roe MW (1983) Deposition pattern of inorganic particles at the alveolar level in the lungs of rats and mice. *Am Rev Respir Dis* 128: 724–729
- Brown DM, Beswick PH, Donaldson K (1999) Induction of nuclear translocation of NF-kappa β in epithelial cells by respirable mineral fibres. *J Pathol* 189: 258–264
- Brown RC, Bellmann B, Muhle H, Ernst H (2002) Subchronic studies on man-made vitreous fibres: Toxicity results. *Ann Occup Hyg* 46: 102–104
- Carbone M, Gaudino G, Yang H (2015) Recent insights from malignant mesothelioma genome sequencing. *J Thoracic Oncol* 10: 409–411
- Cardinali G, Kovacs D, Maresca V, Flori E, Dell'Anna ML, Campopiano A, Casciardi S, Spagnoli G, Torrisi MR, Picardo M (2006) Differential in vitro cellular response induced by exposure to synthetic vitreous fibers (SVFs) and asbestos crocidolite fibers. *Exper Mol Pathol* 81: 31–41

- Castranova V (2004) Signaling pathways controlling the production of inflammatory mediators in response to crystalline silica exposure: role of reactive oxygen/nitrogen species. *Free Radic Biol Med* 37: 916–925
- Cavallo D, Campopiano A, Cardinali G, Casciardi S, De Simone P, Kovacs D, Perniconi B, Spagnoli G, Ursini CL, Fanizza C (2004) Cytotoxic and oxidative effects induced by man-made vitreous fibers (MMVFs) in a human mesothelial cell line. *Toxicology* 201: 219–229
- Churg A (1996) The uptake of mineral particles by pulmonary epithelial cells. *Am J Respir Crit Care Med* 154: 1124–1140
- Churg A (2003) Interactions of exogenous or evoked agents and particles: the role of reactive oxygen species. *Free Radic Biol Med* 34: 1230–1235
- Churg A, Wright J, Gilks B, Dai J (2000) Pathogenesis of fibrosis produced by asbestos and man-made mineral Fibers: What makes a fiber fibrogenic? *Inhal Toxicol* 12, Suppl 3: 15–26
- Coin PG, Roggli VL, Brody AR (1992) Deposition, clearance, and translocation of chrysotile asbestos from peripheral and central regions of the rat lung. *Environ Res* 58: 97–116
- Cooke MS, Evans MD, Dizdaroglu M, Luneg J (2003) Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation and disease. *FASEB J* 17: 1195–1214
- Crapo JD, Young SL, Fram EK, Pinkerton KE, Barry BE, Crapo RO (1983) Morphometric characteristics of cells in the alveolar region of mammalian lungs. *Am Rev Respir Dis* 128: 42–46
- Creutzenberg O, Bellmann B, Muhle H (1997) Biopersistence and bronchoalveolar lavage investigations in rats after a subacute inhalation of various man-made mineral fibres. *Ann occup Hyg* 41: 213–218
- Crumbliiss AL, Garrison JM (1988) A comparison of some aspects of the aqueous coordination chemistry of aluminum (III) and iron (III). *Comments Inorg Chem* ABK 8: 1–26
- Cullen RT, Miller BG, Davis JM, Brown DM, Donaldson K (1997) Short-term inhalation and in vitro tests as predictors of fiber pathogenicity. *Environ Health Perspect* 105: 1235–1240
- Dai YT, Yu CP (1998) Alveolar deposition of fibers in rodents and humans. *J Aerosol Med* 11: 247–258
- Davis JMG, Brown DM, Cullen RT, Donaldson K, Jones AD, Miller BG, McIntosh C, Searl A (1996) A comparison of methods of determining and predicting the pathogenicity of mineral fibres. *Inhal Toxicol* 8: 747–770
- De Visser KE, Korets LV, Coussens LM (2005) De novo carcinogenesis promoted by chronic inflammation is B lymphocyte dependent. *Cancer Cell* 7: 411–423
- De Vuyst P, Dumortier P, Swaen GM, Pairon JC, Brochard P (1995) Respiratory health effects of man-made vitreous (mineral) fibres. *Eur Respir J* 8: 2149–2173
- DGUV (Deutsche Gesetzliche Unfallversicherung) (2014) Verfahren zur getrennten Bestimmung der Konzentrationen von lungengängigen anorganischen Fasern. Von den Unfallversicherungsträgern anerkannte Analyseverfahren zur Festlegung der Konzentrationen krebserzeugender Arbeitsstoffe in der Luft in Arbeitsbereichen. Verfahren 03 (Fasern – 03 – REM/EDXA) (BGI/GUV I 505-46) – Ausgabe Februar 2014
- Dhar S, Liu Z, Thomale J, Dai H, Lippard SJ (2008) Targeted single-wall carbon nanotube-mediated Pt(IV) prodrug delivery using folate as a homing device. *J Am Chem Soc* 130: 11467–11476
- Di Giorgio ML, Di Bucchianico S, Ragnelli AM, Aimola P, Santucci S, Poma A (2011) Effects of single and multi walled carbon nanotubes on macrophages: Cyto and genotoxicity and electron microscopy. *Mutat Res* 722: 20–31

- DIN EN 1094-1 (2008) Feuerfeste Erzeugnisse für Wärmedämmzwecke – Teil 1: Terminologie, Klassifizierung und Prüfverfahren für Erzeugnisse aus Hochtemperaturwolle zur Wärmedämmung, Beuth Verlag, Berlin
- Dizdaroglu M, Coskun E, Jaruga P (2015) Measurement of oxidatively induced DNA damage and its repair, by mass spectrometric techniques. *Free Rad Res* 49: 525–548
- Dodson RF, Williams MG, Corn CJ, Brollo A, Bianchi C (1990) Asbestos content of lung tissue, lymph nodes, and pleural plaques from former shipyard workers. *Am Rev Respir Dis* 142: 843–847
- Dodson RF, Atkinson ALA, Levin JL (2003) Asbestos fiber length as related to potential pathogenicity: a critical review. *Am J Ind Med* 44: 291–297
- Donaldson K, Aitken R, Tran L, Stone V, Duffin R, Forrest G, Alexander A (2006) Carbon nanotubes: A review of their properties in relation to pulmonary toxicology and workplace safety. *Toxicol Sci* 92: 5–22
- Donaldson K, Murphy FA, Duffin R, Poland CA (2010) Asbestos, carbon nanotubes and the pleural mesothelium: a review of the hypothesis regarding the role of long fibre retention in the parietal pleura, inflammation and mesothelioma. *Part Fibre Toxicol* 7: 1–17
- Donaldson K, Poland CA, Murphy FA, MacFarlane M, Chernova T, Schinwald A (2013) Pulmonary toxicity of carbon nanotubes and asbestos – similarities and differences. *Adv Drug Deliv Rev* 65: 2078–2086
- Dopp E, Schiffmann D (1998) Analysis of chromosomal alterations induced by asbestos and ceramic fibers. *Toxicol Lett* 97: 155–162
- Dörger M, Münzing S, Allmeling AM, Krombach F (2000) Comparison of the phagocytic response of rat and hamster alveolar macrophages to man-made vitreous fibers in vitro. *Hum Exp Toxicol* 19: 635–640
- Dörger M, Münzing S, Allmeling AM, Messmer K, Krombach F (2001) Differential responses of rat alveolar and peritoneal macrophages to man-made vitreous fibers in vitro. *Environ Res* 85: 207–214
- Dostert C, Pétrilli V, Van Bruggen R, Steele C, Mossman BT, Tschopp J (2008) Innate immune activation through Nalp3 inflammasome sensing of asbestos and silica. *Sci* 320: 674–677
- Driscoll KE, Hassenbein DG, Carter JM, Kunkel SL, Quinlan TR, Mossman BT (1995) TNF α and increased chemokine expression in rat lung after particle exposure. *Toxicol Lett* 82–83: 483–489
- Dufresne A, Loosereewanich P, Harrigan M, Sébastien P, Perrault G, Bégin R (1993) Pulmonary dust retention in a silicon carbide worker. *Am Ind Hyg Assoc J* 54: 327–330
- Dufresne A, Loosereewanich P, Armstrong B, Infante-Rivard C, Perrault G, Dion C, Massé S, Bégin R (1995) Pulmonary retention of ceramic fibers in silicon carbide (SiC) workers. *Am Ind Hyg Assoc J* 56: 490–498
- Dugger DL, Stanton JH, Irby BN, McConnell BL, Cummings WW, Maatman RW (1964) The exchange of twenty metal ions with the weakly acidic silanol group of silica gel. *J Phys Chem* 68: 757–760
- Eastes W, Hadley JG (1994) Role of fiber dissolution in biological activity in rats. *Regul Toxicol Pharmacol* 20: 104–112
- Eborn SK, Aust AE (1995) Effect of iron acquisition on induction of DNA single-strand breaks by erionite, a carcinogenic mineral fiber. *Arch Biochem Biophys* 316: 507–514
- Elias Z, Poirot O, Daniere MC, Terzetti F, Binet S, Tomatis M, Fubini B (2002) Surface reactivity, cytotoxicity, and transforming potency of iron-covered compared to untreated refractory ceramic fibers. *J Toxicol Environ Health* 65: 2007–2027

- EU (European Commission) (1997) O.J. L 343/19 of 13 December 1997. Commission Directive 97/69/EC of 5 December 1997 adapting to technical progress for the 23rd time Council Directive 67/ 548/EEC on the approximation of the laws regulations and administrative provisions relating to the classification, packaging and labelling of dangerous substances.
<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:31997L0069&from=en>
- EU (2011) Recommendation from the Scientific Committee on Occupational Exposure Limits for Refractory Ceramic Fibres. SCOEL/SUM/165, October, 2011, Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg
- Evans MD, Dizdaroglu M, Cooke MS (2004) Oxidative DNA damage and disease: induction, repair and significance. *Mutat Res* 567: 1–61
- Fach E, Waldman WJ, Williams M, Long J, Meister RK, Dutta PK (2002) Analysis of the biological and chemical reactivity of zeolite-based aluminosilicate fibers and particulates. *Environ Health Perspect* 110: 1087–1096
- Fantauzzi M, Pacella A, Fournier J, Gianfagna A, Andreozzi GB, Rossi A (2012) Surface chemistry and surface reactivity of fibrous amphiboles that are not regulated as asbestos. *Anal Bioanal Chem* 404: 821–833
- Felley-Bosco E (1998) Role of nitric acid in genotoxicity: implication for carcinogenesis. *Cancer Metastasis Rev* 17: 25–37
- FIOH (Finnish Institute of Occupational Health) (2013) Evaluation of the health effects of carbon nanotubes. Final report on project number 109137 of the Finnish work Environment Fund, Finnish Institute of Occupational Health, Helsinki 2003
- Fireman E (2014) Man-made mineral fibers and interstitial lung diseases. *Curr Opin Pulm Med* 20: 194–198
- Fletcher DE, Edge JR (1970) The early radiological changes in pulmonary and pleural asbestosis. *Clin Radiol* 21: 355–365
- Foldbjerg R, Irving ES, Wang J, Thorsen K, Sutherland DS, Autrupa H, Beer C (2014) The toxic effects of single-walled carbon nanotubes are linked to the phagocytic ability of cells. *Toxicol Res* 3: 228–241
- Fubini B (1993) The possible role of surface chemistry in the toxicity of inhaled fibers. In: Warheit DB (Hrsg) *Fiber Toxicology*, Academic Press, San Diego, CA: 229–257
- Fubini B (1997) Surface reactivity in the pathogenic response to particulates. *Environ Health Perspect* 105: 51 013–51 020
- Fubini B, Otero-Aréan C (1999) Chemical aspects of the toxicity of inhaled mineral dusts. *Chem Soc Rev* 28: 373–381
- Fubini B, Hubbard A (2003) Reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS) generation by silica in inflammation and fibrosis. *Free Radic Biol Med* 34: 1507–1516
- Fubini B, Mollo L, Giamello E (1995) Free radical generation at the solid/liquid interface in iron containing minerals. *Free Radic Res* 23: 593–614
- Fubini B, Aust AE, Bolton RE, Borm PJ, Bruch J, Ciapetti G, Donaldson K, Elias Z, Gold J, Jaurand MC, Kane AB, Lison D, Muhle H (1998) Non-animal tests for evaluating the toxicity of solid xenobiotics. *Altern Lab Anim* 26: 579–617
- Gazzano E, Foresti E, Lesci IG, Tomatis M, Riganti C, Fubini B, Roveri N, Ghigo D (2005) Different cellular responses evoked by natural and stoichiometric synthetic chrysotile asbestos. *Toxicol Appl Pharmacol* 206: 356–64
- Gelzleichter TR, Bermudez E, Mangum JB, Wong BA, Janszen DB, Moss OR, Everitt JI (1999) Comparison of pulmonary and pleural responses of rats and hamsters to inhaled refractory ceramic fibers. *Toxicol Sci* 49: 93–101

- Ghio AJ, Churg A, Roggli VL (2004) Ferruginous bodies: implications in the mechanism of fibre and particle toxicity. *Toxicol Pathol* 32: 643–649
- Goodglick LA, Kane AB (1990) Cytotoxicity of long and short crocidolite asbestos fibers in vitro and in vivo. *Cancer Res* 50: 5153–5163
- Gordon GJ, Rockwell GN, Godfrey PA, Jensen RV, Glichman NJ, Yeap BY, Richards WG, Sugarbaker DJ, Bueno R (2005) Validation of genomics-based prognostic tests in malignant pleural mesothelioma. *Clin Cancer Res* 15: 4406–4414
- Gräsel B, Kaya A, Stahl U, Rauber K, Kuntz C (2008) Erionit induzierte Pleuraplaques: Urbane Belastung bei einer türkischen Migrantin. *Chirurg* 79: 584–588
- Greillier L, Astoul P (2008) Mesothelioma and asbestos-related pleural diseases. *Respiration* 76: 1–15
- Guber A, Lerman S, Lerman Y, Ganor E, Trajber I, Edelstein E, Fireman E (2006) Pulmonary fibrosis in a patient with exposure to glass wool fibers. *Am J Ind Med* 49: 1066–1069
- Guo L, Morris D, Liu X, Vaslet C, Hurt R (2007) Iron bioavailability and redox activity in diverse carbon nanotube samples. *Chem Mater* 19: 3472–3478
- Guo YY, Zhang J, Zheng YF, Yang J, Zhu XQ (2011) Cytotoxic and genotoxic effects of multi-wall carbon nanotubes on human umbilical vein endothelial cells in vitro. *Muta Res* 721: 184–191
- Guo G, Chmielecki J, Goparaju C, Heguy A, Dolgalev I, Carbone M, Seepo S, Meyerson M, Pass HI (2015) Whole-exome sequencing reveals frequent genetic alterations in BAP1, NF2, CDKN2A, and CUL1 in malignant pleural mesothelioma. *Cancer Res* 75: 264–269
- Halliwell B (2006) Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now? *J Neurochem* 97: 1634–1658
- Hamilton RF, Wu N, Porter D, Buford M, Wolfarth M, Holian A (2009) Particle length-dependent titanium dioxide nanomaterials toxicity and bioactivity. *Part Fibre Toxicol* 6: 35
- Hammad Y, Simmons W, Abdel-Kader H, Reynolds C, Weill H (1988) Effect of chemical composition on pulmonary clearance of man-made mineral fibres. *Ann Occup Hyg* 32: 769–779
- Harber P, Mohsenifar Z, Oren A, Lew M (1987) Pleural plaques and asbestos-associated malignancy. *J Occup Med* 29: 641–644
- Hart GA, Kathman LM, Hesterberg TW (1994) In vitro cytotoxicity of asbestos and man-made vitreous fibers: roles of fiber length, diameter and composition. *Carcinogenesis* 15: 971–977
- Hawkins CL, Pattison DJ, Whitman M, Davies JM (2007) Chlorination and nitration of DNA and nucleic acid components. In: Mark D, Evans B, Marcus S, Cooke B (Hrsg) *Oxydative damage to nucleic acids*, Springer, Berlin, Heidelberg, New York, 14–29
- Hei TK, Xu A, Huang SX, Zhao Y (2006) Mechanim of fiber carcinogenesis from reactive species to silencing of the BigH3 gene. *Inhal Toxicol* 18: 985–990
- Heintz NH, Janssen-Heiniger YMM, Mossman T (2010) Asbestos, lung cancers and mesotheliomas. From molecular approaches to targeting tumor survival pathways. *Am J Respir Cell Mol Biol* 42: 133–139
- Henry RM, Hoppe AD, Joshi N, Swanson JA (2004) The uniformity of phagosome maturation in macrophages. *J Cell Biol* 164: 185–194
- Hesterberg TW, Chase G, Axten C, Miller WC, Musselman RP, Kamstrup O, Hadley J, Morscheidt C, Bernstein DM, Thevenaz P (1998) Biopersistence of synthetic vitreous fibres and amosite asbestos in the rat lung following inhalation. *Toxicol Appl Pharmacol* 151: 262–275
- Hippeli S, Dornisch K, Wiethege T, Gillissen A, Müller KM, Elstner EF (2001) Biological durability and oxidative potential of man-made vitreous fibres as compared to crocidolite asbestos fibres. *Z Naturforsch C* 56: 633–648

- Hochella MF (1993) Surface chemistry, structure, and reactivity of hazardous mineral dust. In: Guthrie GD, Mossman BT (Hrsg) *Health Effects of Mineral Dusts*. Mineralogical Society of America. *Reviews in Mineralogy* 28: 275–308
- Hu Q, Akatsuka S, Yamashita Y, Ohara H, Nagai H, Okazaki Y, Takahashi T, Toyokuni S (2010) Homozygous deletion of CDKN2A/2B is a hallmark of iron-induced high-grade rat mesothelioma. *Lab Invest* 90: 360–373
- Huang SX, Jaurand MC, Kamp DW, Whysner J, Hei TK (2011) Role of mutagenicity in asbestos fiber-induced carcinogenicity and other diseases. *J Toxicol Environ Health* 14: 179–245
- Huggins JT, Sahn SA (2004) Causes and management of pleural fibrosis. *Respirology* 9: 441–447
- Hussain SP, Hofseth LJ, Harris CC (2003) Radical causes of cancer. *Nature* 3: 276–285
- Iancu C, Mocan L, Bele C, Orza AI, Tabaran FA, Catoi C, Stiufuc R, Stir A, Matea C, Iancu D, Agoston-Coldea L, Zaharie F, Mocan T (2011) Enhanced laser thermal ablation for the in vitro treatment of liver cancer by specific delivery of multiwalled carbon nanotubes functionalized with human serum albumin. *Int J Nanomed* 6: 129–141
- IARC (International Agency for Research on Cancer) (2002) *Man-made vitreous fibres*. IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans, Band 81, IARC, Lyon, FR, 1–420
- IARC (International Agency for Research on Cancer) (2006) WHO Workshop on mechanisms of fibre carcinogenesis and chrysotile asbestos substitutes, 8–12 November 2005, Lyon, France, NEP/FAO/COP.3/INF) 1–11
- IARC (International Agency for Research on Cancer) (2009) *A review of human carcinogens: Arsenic, Metals, Fibres, and Dusts*. IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk to humans, Band. 100C, IARC, Lyon, France, 1–350
- ILSI (International Life Science Institute) (2005) *Testing of fibrous particles: short-term assays and strategies*, Report of an ILSI Risk Science Institute Working Group, *Inhal Toxicol* 17: 497–537
- Jaurand MC (1996) Use of in-vitro genotoxicity and cell transformation assays to evaluate the potential carcinogenicity. In: Kane AB, Boffetta P, Saracci R, J D. Wilbourn JD (Hrsg) *Mechanisms of Fibre Carcinogenesis*, IARC Scientific Publications 140: 55–72
- Jaurand MC (1997) Mechanisms of fiber-induced genotoxicity. *Environ Health Perspect* 105: 1073–1084
- Jaurand MC, Kaplan H, Thiollot J, Pinchon MC, Bernaudin JF, Bignon J (1979) Phagocytosis of chrysotile fibers by pleural mesothelial cells in culture. *Am J Pathol* 94: 529–538
- Ji Z, Wang X, Zhang H, Lin S, Meng H, Sun B, George S, Xia T, Nel AE, Zink JI (2012) Designed synthesis of CeO₂ nanorods and nanowires for studying toxicological effects of high aspect ratio nanomaterials. *ACS Nano* 6: 5366–5380
- Jones LE, Ying L, Hofseth AB, Jelezcova E, Sobel RW, Amos S, Harris CC, Espey MG, Hofseth LJ, Wyatt MD (2009) Differential effects of reactive nitrogen species on DNA base excision repair initiated by the alkyladenine DNA glycosylase. *Carcinogenesis* 30: 2123–2129
- Kagan VE, Konduru NV, Feng W, Allen BL, Conroy J, Volkov Y, Vlasova II, Belikova NA, Yanamala N, Kapralov A, Tyurina YY, Shi J, Kisin ER, Murray AR, Franks J, Stolz D, Gou P, Klein-Seetharaman J, Fadeel B, Star A, Shvedova AA (2010) Carbon nanotubes degraded by neutrophil myeloperoxidase induce less pulmonary inflammation. *Nat Nanotechnol* 5: 354–359
- Kam NW, Dai H (2005) Carbon nanotubes as intracellular protein transporters: generality and biological functionality. *J Am Chem Soc* 127: 6021–6026

- Kam NW, O'Connell M, Wisdom JA, Dai H (2005 a) Carbon nanotubes as multifunctional biological transporters and near-infrared agents for selective cancer cell destruction. *Proc Natl Acad Sci* 102: 11 600–11 605
- Kam NW, Liu Z, Dai H (2005 b) Functionalization of carbon nanotubes via cleavable disulfide bonds for efficient intracellular delivery of siRNA and potent gene silencing. *J Am Chem Soc* 127: 12 492–12 493
- Kane (1996) Mechanisms of fibre carcinogenesis. Consensus report. International Agency for Research on Cancer. *IARC Sci Publ* 140: 1–9
- Kang B, Yu DC, Chang SQ, Chen D, Dai YD, Ding Y (2008) Intracellular uptake, trafficking and subcellular distribution of folate conjugated single walled carbon nanotubes within living cells. *Nanotechnology* 19: 375103
- Kang B, Yu D, Dai Y, Chang S, Chen D, Ding Y (2009) Cancer-cell targeting and photoacoustic therapy using carbon nanotubes as “bomb” agents. *Small* 5: 1292–1301
- Kang B, Chang S, Dai Y, Yu D, Chen D (2010) Cell response to carbon nanotubes: size-dependent intracellular uptake mechanism and subcellular fate. *Small* 6: 2362–2366
- Kato T, Totsuka Y, Ishino K, Matsumoto Y, Tada Y, Nakae D, Goto S, Masuda S, Ogo S, Kawanishi M, Yagi T, Matsuda T, Watanabe M, Wakabayashi K (2013) Genotoxicity of multi-walled carbon nanotubes in both in vitro and in vivo systems. *Nanotoxicology* 7: 452–461
- Klebanoff SJ (2005) Myeloperoxidase: friend and foe. *J Leukoc Biol* 77: 598–625
- Kliment CR, Clemens K, Oury TD (2009) North American erionite-associated mesothelioma with pleural plaques and pulmonary fibrosis: a case report. *Int J Clin Exp Pathol* 2: 407–410
- Koerten HK, de Bruijin JD, Daems WT (1990) The formation of asbestos bodies by mouse peritoneal macrophages. *Am J Pathol* 137: 121–134
- Krauss V, Fassl A, Fiebig P, Patties I, Sass H (2006) The evolution of the histone methyltransferase gene Su(var)3-9 in metazoans includes a fusion with and a re-fission from a functionally unrelated gene. *BMC Evol Bio*: 6:18
- Krismann M, Müller KM, Jaworska M, Johnen G (2002) Molecular cytogenetic differences between histological subtypes of malignant mesotheliomas: DNA cytometry and comparative genomic hybridization of 90 cases. *J Pathol* 197: 363–371
- Krombach F, Münzing S, Allmeling AM, Gerlach JT, Behr J, Dörger M (1997) Cell size of alveolar macrophages: An interspecies comparison. *Environ Health Perspect* 105: 1261–1263
- Kucki M, Kaiser JP, Clift MJD, Rothen-Rutishauser B, Petri-Fink A, Wick P (2014) The Role of the protein corona in fiber structure-activity relationships fibers. *Nat Rev Cancer* 2: 187–210
- Lecomte C, Andujar P, Renier A, Kheuang L, Abramowski V, Mellottee L, Fleury-Feith J, Zucman-Rossi J, Giovannini M, Jaurand MC (2005) Similar tumor suppressor gene alteration profiles in asbestos-induced murine and human mesothelioma. *Cell Cycle* 4: 1862–1869
- Lemasters G, Lockey J, Rice C, McKay R, Hansen K, Lu J, Levin L, Gartside P (1994) Radiographic changes among workers manufacturing refractory ceramic fibre and products. *Ann Occup Hyg* 38: 745–751
- Lentz TJ, Rice CH, Succop PA, Lockey JE, Dement JM, Lemasters GK (2003) Pulmonary deposition modeling with airborne fiber exposure data: a study of workers manufacturing refractory ceramic fibers. *Appl Occup Environ Hyg* 18: 278–288
- Li J (1993) Ultrastructural study on the pleural stomata in human. *Funct Dev Morphol* 3: 277–280
- Li YY, Li JC (2003) Ultrastructure and three-dimensional study of the lymphatic stomata in the costal pleura of the rabbit. *Microsc Res Tech* 62: 240–246
- Li YY, Li JC (2004) Ultrastructural study of pleural lymphatic drainage unit and effect of nitric oxide on the drainage capacity of pleural lymphatic stomata in the rat. *Ann Anat* 186: 25–31

- Lindberg HK, Falck GC, Singh R, Suhonen S, Järventaus H, Vanhala E, Catalán J, Farmer PB, Savolainen KM, Norppa H (2013) Genotoxicity of short single-wall and multi-wall carbon nanotubes in human bronchial epithelial and mesothelial cells in vitro. *Toxicology* 313: 24–37
- Liochev SI, Fridovich I (1999) The relative importance of HO• and ONOO– in mediating the toxicity of O•–. *Free Radic Biol Med* 26: 777–778
- Lippmann M (1990) Effects of fiber characteristics on lung deposition, retention, and disease. *Environ Health Perspect* 88: 311–317
- Lippmann M, Yeates DB, Albert RE (1980) Deposition, retention, and clearance of inhaled particles. *Br J Ind Med* 37: 337–362
- Lipworth L, La Vecchia C, Bosetti C, McLaughlin JK (2009) Occupational exposure to rock wool and glass wool and risk of cancers of the lung and the head and neck: a systematic review and meta-analysis. *J Occup Environ Med* 51: 1075–1087
- Liu X, Gurel V, Morris D, Murray D, Zhltkovich A (2007) Bioavailability of nickel in single-wall carbon nanotubes. *Adv Mater* 19: 2790–2796
- Liu JH, Yang ST, Wang H, Liu Y (2010) Advances in biodistribution study and tracing methodology of carbon nanotubes. *J Nanosci Nanotechnol* 10: 8469–8481
- Lockey JE, Lemasters GK, Rice C, Hansen K, Levin L, Shipley R, Spitz H, Wiot J (1996) Refractory ceramic fiber exposure and pleural plaques. *Am J Respir Crit Care Med* 154: 1405–1410
- Lockey JE, Lemasters GK, Levin L, Rice C, Yiin J, Reutman S, Papes DM (2002) A longitudinal study of chest radiographic changes of workers in the refractory ceramic fiber industry. *Chest* 121: 2044–2051
- Lockey JE, Roggli VL, Hilbert TJ, Rice CH, Levin LS, Borton EK, Biddinger PW, Lemasters GK (2012) Biopersistence of refractory ceramic fiber in human lung tissue and a 20-year follow-up of radiographic pleural changes in workers. *J Occup Environ Med* 54: 781–788
- Lo Iacono M, Monica V, Righi L, Grosso F, Libener R, Vatrano S, Bironzo P, Novello S, Musmeci L, Volante M, Papotti M, Scagliotti V (2014) Targeted next-generation sequencing of cancer genes in advanced stage malignant pleural mesothelioma: a retrospective study. *J Thorac Oncol* 10: 492–499
- Lopez-Rios F, Chuai S, Flores R, Shimizu S, Ohno T, Wakahara K, Illei PB, Hussain S, Krug L, Zakowski MF, Rush V, Olshen AB, Ladanyi M (2006) Global gene expression profiling of pleura mesotheliomas: overexpression of aurora kinases and P16/CDKN2A deletion as prognostic factors and critical evaluation of microarray-based prognostic prediction. *Cancer Res* 66: 2970–2979
- Lum H, Tyler WS, Hyde DM, Plopper CG (1983) Morphometry of in situ and lavaged pulmonary alveolar macrophages from control and ozone-exposed rats. *Exp Lung Res* 5: 61–77
- Manshian BB, Jenkins GJ, Williams PM, Wright C, Barron AR, Brown AP, Hondow N, Dunstan PR, Rickman R, Brady K, Doak SH (2013) Single-walled carbon nanotubes: differential genotoxic potential associated with physico-chemical properties. *Nanotoxicology* 7: 144–156
- Maples KR, Johnson NF (1992) Fiber-induced hydroxyl radical formation: correlation with mesothelioma induction in rats and humans. *Carcinogenesis* 13: 2035–2039
- Massé S, Bégin R, Cantin A (1988) Pathology of silicon carbide pneumoconiosis. *Mod Pathol* 1: 104–108
- Maxim LD, Niebo R, Utell MJ (2015) Are pleural plaques an appropriate endpoint for risk analyses? *Inhal Toxicol* 27: 321–334
- Maynard AD, Baron PA, Foley M, Shvedova AA, Kisin ER, Castranova V (2004) Exposure to carbon nanotube material: aerosol release during the handling of unrefined single-walled carbon nanotube material. *J Toxicol Environ Health* 67: 87–107

- McClellan RO, Hesterberg TW (1994) Role of biopersistence in the pathogenicity of man-made fibers and methods for evaluating biopersistence: a summary of two round-table discussions. *Environ Health Pers* 102, Suppl 5: 277–283
- Møller P, Christophersen DV, Jensen DM, Kermanizadeh A, Roursgaard M, Jacobsen NR, Hemmingsen JG, Danielsen PH, Cao Y, Jantzen K, Klingberg H, Hersoug LG, Loft S (2014) Role of oxidative stress in carbon nanotube-generated health effects. *Arch Toxicol* 88: 1939–1964
- Monchaux G, Bignon J, Jaurand MC, Lafuma J, Sebastien P, Masse R, Hirsch A, Goni J (1981) Mesotheliomas in rats following inoculation with acid-leached chrysotile asbestos and other mineral fibres. *Carcinogenesis* 2: 229–236
- Monteiro-Riviere NA, Nemanich RJ, Inman AO, Wang YY, Riviere JE (2005) Multi-walled carbon nanotube interactions with human epidermal keratinocytes. *Toxicol Lett* 155: 377–384
- Montelius J (2005) Consensus Report for Synthetic Inorganic Fibers. In: Criteria Group for Occupational Standards (Hrsg) Scientific basis for swedish occupational standards, Arbetskyddsstyrelsen, Arbete och Hälsa 7, Solna, Schweden, 44–72
- Morimoto Y, Tsuda T, Hirohashi M, Yamato H, Hori H, Ohgami A, Yatera K, Kim HN, Ding L, Kido M, Higashi T, Tanaka I (1999) Effects of mineral fibers on the gene expression of pro-inflammatory cytokines and inducible nitric-oxide synthase in alveolar macrophages. *Ind Health* 37: 329–334
- Morimoto Y, Tsuda T, Yamato H, Oyaabu T, Higashi T, Tanaka I (2001) Comparison of gene expression of cytokines mRNA in lungs of rats induced by intratracheal instillation and inhalation of mineral fibers. *Inhal Toxicol* 13: 589–601
- Mossman BT (2008) Assessment of the pathogenic potential of asbestiform vs. nonasbestiform particulates (cleavage fragments) in in vitro (cell or organ culture) models and bioassays. *Regul Toxicol Pharmacol* 52: 200–203
- Mossman BT, Churg A (1998) Mechanisms in the pathogenesis of asbestosis and silicosis. *Am J Respir Crit Care Med* 157: 1666–1680
- Mossman BT, Glenn RE (2011) Bioreactivity of the crystalline silica polymorphs, quartz and cristobalite, and implications for occupational exposure limits (OELs). *Crit Rev Toxicol* 43: 632–660
- Mossman BT, Lounsbury KM, Reddy SP (2006) Oxidants and signaling by mitogen-activated protein kinases in lung epithelium. *Am J Respir Cell Mol Biol* 34: 666–669
- Mossman BT, Shukla A, Heintz NH, Verschraegen CF, Thomas A, Hassan R (2013) New insights into understanding the mechanisms, pathogenesis, and management of malignant mesotheliomas. *Am J Pathol* 182: 1065–1077
- Muhle H, Bellmann B, Pott F (1994) Comparative investigations of the biodurability of mineral fibers in the rat lung. *Environ Health Perspect* 102: 163–168
- Murphy SS, Testa JR (1999) Asbestos, chromosomal deletions, and tumor suppressor gene alterations in human malignant mesothelioma. *J Cell Physiol* 180: 150–157
- Murphy FA, Schinwald A, Poland CA, Donaldson K (2012) The mechanism of pleural inflammation by long carbon nanotubes: interaction of long fibres with macrophages stimulates them to amplify pro-inflammatory responses in mesothelial cells. *Part Fibre Toxicol* 9: 8
- Murphy FA, Poland CA, Duffin R, Donaldson K (2013) Length-dependent pleural inflammation and parietal pleural responses after deposition of carbon nanotubes in the pulmonary airspaces of mice. *Nanotoxicology* 7: 1157–1167
- Nagai H, Toyokuni S (2012) Differences and similarities between carbon nanotubes and asbestos fibers during mesothelial carcinogenesis: shedding light on fiber entry mechanism. *Cancer Sci* 103: 1378–1390

- Nagai H, Okazaki Y, Chew SH, Misawa N, Yamashita Y, Akatsuka S, Ishihara T, Yamashita K, Yoshikawa Y, Yasui H, Jiang L, Ohara H, Takahashi T, Ichihara G, Kostarelos K, Miyata Y, Shinohara H, Toyokuni S (2011) Diameter and rigidity of multiwalled carbon nanotubes are critical factors in mesothelial injury and carcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 108: 1330–1338
- Nelson HH, Christiani DC, Wiencke JK, Mark EJ, Wain JC, Kelsey KT (1999) k-ras mutation and occupational asbestos exposure in lung adenocarcinoma. Asbestos-related cancer without asbestosis. *Cancer Res* 59: 4570–4573
- Nguea HD, de Reydellet A, Le Faou A, Zaiou M, Rihn B (2008) Macrophage culture as a suitable paradigm for evaluation of synthetic vitreous fibers. *Crit Rev Toxicol* 38: 675–695
- NIOSH (National Institute of Occupational Safety and Health) (2006) Occupational Exposure to Refractory Ceramic Fibers. Criteria for a recommended standard Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control. DHHS (NIOSH), Cincinnati OH, USA, Publication No. 2006-123
<https://www.cdc.gov/niosh/docs/2006-123/pdfs/2006-123.pdf>
- NIOSH (2011) Asbestos fibers and other enlogate mineral particles: state of the science and roadmap for research, Public Health Service, Centers for Disease Control. DHHS (NIOSH), NIOSH, Cincinnati, OH, USA, Current Intelligence Bulletin 62
<https://www.cdc.gov/niosh/docs/2011-159/pdfs/2011-159.pdf>
- Nishiike T, Nishimura Y, Wada Y, Iguchi H (2005) Production of nitric oxide elevates nitrosothiol formation resulting in decreased glutathione in macrophages exposed to asbestos or asbestos substitutes. *Arch Toxicol* 79: 83–89
- NTP (National Toxicology Program) (2010) NTP Technical Report on carcinogens 12 background document for glass wool fibers, US Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA
- NTP (2016) NTP Technical Report on carcinogens, Fourteenth Edition, Certain Glass Wool Fibers, US Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA,
<https://ntp.niehs.nih.gov/pubhealth/roc/index-1.html>
- Nymark P, Wikman H, Hienonen-Kempas T, Anttila S (2008) Molecular and genetic changes in asbestos-related lung cancer. *Cancer Lett* 265: 1–15
- Nymark P, Jensen KA, Suhonen S, Kembouche Y, Vippola M, Kleinjans J, Catalán J, Norppa H, van Delft J, Briedé JJ (2014) Free radical scavenging and formation by multi-walled carbon nanotubes in cell free conditions and in human bronchial epithelial cells. *Part Fibre Toxicol* 11: 4
- Oberdörster G (1988) Lung clearance of inhaled insoluble and soluble particles. *J Aerosol Med* 1: 289–330
- Oberdörster G (2002) Toxikokinetics and effects of fibrous and nonfibrous particles. *Inhal Toxicol* 14: 29–56
- Oberdörster G, Lehnert BE (1991) Toxicological aspects of the pathogenesis of fibre-induced pulmonary effects. In: Brown RC, Hoskins JA, Johnson NF (Hrsg) Mechanisms in fibre carcinogenesis. NATO ASI Ser, Series A. Life Sci 223: 157–179
- Ohshima H, Sawa T, Akaie T (2006) 8-Nitroguanine, a product of nitrative DNA damage caused by reactive nitrogen species: formation, occurrence and implications in inflammation and carcinogenesis. *Antioxid Redox Signal* 8: 1033–1045
- Ohyama M, Otake T, Morinaga K (2000) The chemiluminescent response from human monocyte-derived macrophages exposed to various mineral fibers of different sizes. *Ind Health* 38: 289–293

- Ohyama M, Otake T, Morinaga K (2001) Effect of size of man-made and natural mineral fibers on chemiluminescent response in human monocyte-derived macrophages. *Environ Health Perspect* 109: 1033–1038
- Oksa P, Wolff H, Vehmas T, Pallasaho P, Frilander H (2014) Asbestos, asbestosis, and cancer. Helsinki Criteria for Diagnosis and Attribution 2014. Finnish Institute of Occupational Health, 1–151
- Olson LL, O'Melia CR (1973) The interactions of Fe(III) with Si(OH)₄. *J Inorg Nuclear Chem* 35: 1977–1985
- Ong T, Liu Y, Zhong BZ, Jones WG, Whong WZ (1997) Induction of micronucleated cells by man-made mineral fibers in vitro in mammalian cells. *J Toxicol Environ Health* 50: 409–414
- Osgood CJ (1994) Refractory ceramic fibers (RCFs) induce germline aneuploidy in *Drosophila* oocytes. *Mutat Res* 44: 23–27
- Osmond-McLeod MJ, Poland CA, Murphy F, Waddington L, Morris H, Hawkins SC, Clark S, Aitken R, McCall MJ, Donaldson K (2011) Durability and inflammogenic impact of carbon nanotubes compared with asbestos fibres. *Part Fibre Toxicol* 8: 15
- Pacher P, Beckman JS, Liaudet L (2007) Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiol Rev* 87: 315–424
- Pairon JC, Laurent F, Rinaldo M, Clin B, Andujar P, Ameille J, Brochard P, Chammings S, Ferretti G, Galateau-Sallé F, Gislard A, Letourneux M, Luc A, Schorlé E, Paris C (2013) Pleural plaques and the risk of pleural mesothelioma. *J Natl Cancer Inst* 105: 293–301
- Pairon JC, Andujar P, Rinaldo M, Ameille J, Brochard P, Chammings S, Clin B, Ferretti G, Gislard A, Laurent F, Luc A, Wild P, Paris C (2014) Asbestos exposure, pleural plaques, and the risk of death from lung cancer. *Am J Crit Care Med* 190: 1413–1420
- Pande P, Mosleh TA, Aust AE (2006) Role of alphavbeta5 integrin receptor in endocytosis of crocidolite and its effect on intracellular glutathione levels in human lung epithelial (A549) cells. *Toxicol Appl Pharmacol* 210: 70–77
- Parker H, Albrett AM, Kettle AJ, Winterbourn CC (2012) Myeloperoxidase associated with neutrophil extracellular traps is active and mediates bacterial killing in the presence of hydrogen peroxide. *J Leukoc Biol* 91: 369–376
- Pinkerton KE, Ling YC, Barry BE (1993) Morphometric assessment of lung injury patterns following inhalation of mineral fibers, In: Warheit DB (Hrsg), *Fiber Toxicology*, Academic Press, San Diego, CA: 99–114
- Poland CA, Duffin R, Kinloch I, Maynard A, Wallace WA, Seaton A (2008) Carbon nanotubes introduced into the abdominal cavity of mice show asbestos-like pathogenicity in a pilot study. *Nat Nanotechnol* 3: 423–428
- Porter DW, Hubbs AE, Mercer RR, Wu N, Wolfarth MG, Sriram K (2010) Mouse pulmonary dose- and time course-responses induced by exposure to multi-walled carbon nanotubes. *Toxicol* 269: 136–147
- Poulos TL (2014) Heme enzyme structure and function. *Chem Rev* 114: 3919–3962
- Prandi L, Bodoardo S, Penazzi N, Fubini B (2001) Redox state and mobility of iron at the asbestos surface: a voltammetric approach. *J Mater Chem* 11: 1495–1500
- Pschyrembel (2013) *Klinisches Wörterbuch*. De Gruyter, De Gruyter Berlin, Boston: 900–901
- Rapisarda V, Loreto C, Ledda C, Musumeci G, Bracci M, Santarelli L, Renis M, Ferrante M, Cardile V (2015) Cytotoxicity, oxidative stress and genotoxicity induced by glass fibers on human alveolar epithelial cell line A549. *Toxicol In Vitro* 29: 551–557

- Ramos-Nino ME, Heintz N, Scappoli L, Martinelli M, Land S, Nowak N, Haegenst L, Mannig B, Mannig N, MacPherson M, Stern M, Mossman B (2003) Gene profiling and kinase screening in asbestos-exposed epithelial cells and lungs. *Am J Respir Cell Mol Biol* 29: 551–558
- Rittinghausen S, Hackbarth A, Creutzenberg O, Ernst H, Heinrich U, Leonhardt A, Schaudien D (2014) The carcinogenic effect of various multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs) after intraperitoneal injection in rats. *Part Fibre Toxicol* 11: 59
- Robledo R, Mossman B (1999) Cellular and molecular mechanisms of asbestos-induced fibrosis. *J Cell Physiol* 180: 158–166
- Romundstad P, Andersen A, Haldorsen T (2001) Cancer incidence among workers in the Norwegian silicon carbide industry. *Am J Epidemiol* 153: 978–986
- Rosenbloom J, Castro SV, Jimenez SA (2010) Narrative review: fibrotic diseases: cellular and molecular mechanisms and novel therapies. *Ann Intern Med* 152: 159–166
- Roos WP, Thomas AD, Kaina B (2016) DNA damage and the balance between survival and death in cancer biology. *Nat Rev Cancer* 16: 20–33
- Ryman-Rasmussen JP, Cesta MF, Brody AR, Shipley-Phillips JK, Everitt J, Tewksbury EW, Moss OR, Wong BA, Dodd DE, Andersen ME, Bonner JC (2009) Inhaled carbon nanotubes reach the sub-pleural tissue in mice. *Nat Nanotechnol* 4: 747–751
- Saffiotti U (1998) Respiratory tract carcinogenesis by mineral fibres and dusts: models and mechanisms. *Monaldi Arch Chest Dis* 53: 160–167
- Sanchez VC, Pietruska JR, Miselis NR, Hurt RH, Kane AB (2009) Biopersistence and potential adverse health impacts of fibrous nanomaterials: what have we learned from asbestos? *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol* 1: 511–529
- Sawa T, Ohshima H (2006) Nitritative DNA damage in inflammation and its possible role in carcinogenesis. *Nitric Oxide* 14: 91–100
- Schins RP, Donaldson K (2000) Nuclear factor kappa-B activation by particles and fibers. *Inhal Toxicol* 12: 317–326
- Schinwald A, Donaldson K (2012) Use of back-scatter electron signals to visualise cell/nanowires interactions in vitro and in vivo; frustrated phagocytosis of long fibres in macrophages and compartmentalisation in mesothelial cells in vivo. *Part Fibre Toxicol* 9: 34
- Schinwald A, Murphy FA, Prina-Mello A, Poland CA, Byrne F, Movia D, Glass JR, Dickerson JC, Schultz DA, Jeffree CE, Macnee W, Donaldson K (2012 a) The threshold length for fiber-induced acute pleural inflammation: shedding light on the early events in asbestos-induced mesothelioma. *Toxicol Sci* 128: 461–470
- Schinwald A, Chernova T, Donaldson K (2012 b) Use of silver nanowires to determine thresholds for fibre length-dependent pulmonary inflammation and inhibition of macrophage migration in vitro. *Particle Fibre Toxicol* 9: 47–62
- Schürkes C, Brock W, Abel J, Unfried K (2004) Induction of 8-hydroxydeoxyguanosine by man made vitreous fibres and crocidolite asbestos administered intraperitoneally in rats. *Mutat Res* 553: 59–65
- Sebring RJ, Lehnert BE (1992) Morphometric comparisons of rat alveolar macrophages, pulmonary interstitial macrophages, and blood monocytes. *Exp Lung Res* 18: 479–496
- Seikido Y, Pass HI, Bader S, Mew DJY, Christmas ME, Gazdar AF, Minna JD (1995) Neurofibromatosis type 2 (NF2) gene is somatically mutated in mesothelioma but not in lung cancer. *Cancer Res* 55: 1227–1231
- Selçuk ZT, Cöplü L, Emri S, Kalyoncu AE, Sahin AA, Bariş YI (1992) Malignant pleural mesothelioma due to environmental mineral fiber exposure in Turkey. Analysis of 135 cases. *Chest* 102: 790–796

- Shen H, Laird PW (2013) Interplay between the cancer genome and epigenome. *Cell* 153: 38–55
- Shinohara H (1997) Distribution of lymphatic stomata on the pleural surface of the thoracic cavity and the surface topography of the pleural mesothelium in the golden hamster. *Anat Rec* 249: 16–23
- Shvedova AA, Kisin ER, Mercer R, Murray AR, Johnson VJ, Potapovich AI, Tyurina YY, Gorelik O, Arepalli S, Schwegler-Berry D, Hubbs AE, Antonini J, Evans DE, Ku BK, Ramsey D, Maynard A, Kagan VE, Castranova V, Baron P (2005) Unusual inflammatory and fibrogenic pulmonary responses to single-walled carbon nanotubes in mice. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 289: 698–708
- Singhal S, Wiewrodt R, Malden LD, Amin KM, Matzie K, Friedberg J, Kucharczuk JC, Litzky LA, Johnson SW, Kaiser LR, Albelda SM (2003) Gene expression profiling of malignant mesothelioma. *Clin Cancer Res* 9: 3080–3097
- Srivastava RK, Pant AB, Kashyap MP, Kumar V, Lohani M, Jonas L, Rahman Q (2011) Multi-walled carbon nanotubes induce oxidative stress and apoptosis in human lung cancer cell line-A549. *Nanotoxicology* 5: 195–207
- Stanton MF, Layard M, Tegeris A, Miller E, May M, Morgan E, Smith A (1981) Relation of particle dimension to carcinogenicity in amphibole asbestoses and other fibrous minerals. *J Natl Cancer Inst* 67: 965–975
- Stone KC, Mercer RR, Gehr P, Stockstill B, Crapo JD (1992) Allometric relationships of cell numbers and size in the mammalian lung. *Am J Respir Cell Mol Biol* 6: 235–243
- Suzuki Y (1974) Interaction of asbestos with alveolar cells. *Environ Health Perspect* 9: 241–252
- Thomas RK, Baker AC, Debiassi RM, Winckler W, Laframboise T, Lin WM, Wang M, Feng W, Zander T, MacConaill L, Lee JC, Nicoletti R, Hatton C, Goyette M, Girard L, Majmudar K, Ziaugra L, Wong KK, Gabriel S, Beroukhi R, Peyton M, Barretina J, Dutt A, Emery C, Greulich H, Shah K, Sasaki H, Gazdar A, Minna J, Armstrong SA, Mellinghoff IK, Hodi FS, Dranoff G, Mischel PS, Cloughesy TF, Nelson SF, Liao LM, Mertz K, Rubin MA, Moch H, Loda M, Catalona W, Fletcher J, Signoretti S, Kaye F, Anderson KC, Demetri GD, Dummer R, Wagner S, Herlyn M, Sellers WR, Meyerson M, Garraway LA (2007) High-throughput oncogene mutation profiling in human cancer. *Nat Genet* 39: 347–351
- Timbrell V (1972) An aerosol spectrometer and its applications, In: Mercer TT, Morrow PE, Stöber W (Hrsg) *Assessment of Airborne Particles*, Springfield IL, Charles C Thomas, 290–330
- Timbrell V (1982) Deposition and retention of fibres in the human lung. *Ann Occup Hyg* 26: 347–369
- Topinka J, Loli P, Dusinská M, Hurbánková M, Kováčiková Z, Volkovová K, Kazimířová A, Barancoková M, Tatrai E, Wolff T, Oesterle D, Kyrtopoulos SA, Georgiadis P (2006 a) Mutagenesis by man-made mineral fibres in the lung of rats. *Mutat Res* 595: 174–183
- Topinka J, Loli P, Hurbánková M, Kováčiková Z, Volkovová K, Wolff T, Oesterle D, Kyrtopoulos SA, Georgiades P (2006 b) Benzo[a]pyrene-enhanced mutagenesis by man-made mineral fibres in the lung of lambda-lacI transgenic rats. *Mutat Res* 595: 167–173
- Trethowan WN, Burge PS, Rossiter CE, Harrington JM, Calvert IA (1995) Study of the respiratory health of employees in seven European plants that manufacture ceramic fibres. *Occup Environ Med* 52: 97–104
- Tsuda T, Morimoto Y, Yamamoto H, Nakamura H, Hori H, Kido M, Higashi T, Tanaka J (1997) Effects of mineral fibers on the expression of genes whose product may play a role in fiber pathogenesis. *Environ Health Perspect* 105: 1173–1178
- Uttel MJ, Maxim LD (2010) Refractory ceramic fiber (RFC) toxicity and epidemiology: a review. *Inhal Toxicol* 22: 500–521

- Valic E (2012) Präsentation: Künstliche Mineralfasern. Toxikologische und arbeitsmedizinische Aspekte,
www.forte.or.at/download.php?id=1114
- Valinluck V, Sowers LC (2007) Endogenous cytosine damage products alter the site selectivity of human DNA maintenance methyltransferase DNMT1. *Cancer Res* 67: 946–950
- Valinluck V, Wu W, Liu P, Neidigh JW, Sowers LC (2006) Impact of cytosine 5-halogens on the interaction of DNA with restriction endonucleases and methyltransferase. *Chem Res Toxicol* 19: 556–562
- Wang QE, Han CH, Yang YP, Wang HB, Wu WD, Liu SJ, Kohyama N (1999) Biological effects of man-made mineral fibers (II) - their genetic damages examined by in vitro assay. *Ind Health* 37: 342–347
- Wardenbach P, Rödelserperger K, Roller M, Muhle H (2005) Classification of man-made vitreous fibers: Comments on the revaluation by an IARC working group. *Regul Toxicol Pharmacol* 43: 181–193
- Warheit DB, Overby LH, George G, Brody AR (1988) Pulmonary macrophages are attracted to inhaled particles through complement activation. *Exp Lung Res* 14: 51–66
- Warheit DB, Gavett S (1993) Current concepts in the pathogenesis of particulate-induced lung injury. In: Warheit DB (Hrsg) *Fiber toxicology*, Academic Press, San Diego, CA, 305–319
- Weiss W (1993) Asbestos-related pleural plaques and lung cancer. *Chest* 103: 1854–1859
- WHO (World Health Organization) (1988) Man-made mineral fibres. *IPCS – Environmental Health Criteria* Nr. 77, WHO, Geneva
- WHO (1997) Determination of airborne fibre number concentrations. A recommended method, by phase contrast optical microscopy. WHO, Geneva,
http://www.who.int/occupational_health/publications/en/oehairbornefibre.pdf
- WHO (2006) Workshop on Mechanisms of Fibre Carcinogenesis and Assessment of Chrysotile Asbestos Substitutes. Summary Consensus Report, 8–12 November 2005, Lyon, France
- WHO-Report (2008) Report of the World Health Organization workshop on mechanisms of fibre carcinogenesis and assessment of chrysotile asbestos substitutes, 8–12 November 2005, Lyon, France
http://www.who.int/ipcs/assessment/public_health/asbestos_substitutes.pdf
- Wu J, Liu W, Koenig K, Idell S, Broaddus VC (2000) Vitronectin adsorption to chrysotile asbestos increases fiber phagocytosis and toxicity for mesothelial cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 279: 916–923
- Xu J, Futakuchi M, Shimizu H, Alexander DB, Yanagihara K, Fukamachi K, Suzui M, Kanno J, Hirose A, Ogata A, Sakamoto Y, Nakae D, Omori T, Tsuda H (2012) Multi-walled carbon nanotubes translocate into the pleural cavity and induce visceral mesothelial proliferation in rats. *Cancer Sci* 103: 2045–2050
- Ye J, Shi X, Jones W, Rojanasakul Y, Cheng N, Schwegler-Berry D, Baron P, Deye GJ, Li C, Castranova V (1999) Critical role of glass fiber length in TNF-alpha production and transcription factor activation in macrophages. *Am J Physiol* 276: 426–434
- Ye J, Zeidler P, Young SH, Martinez A, Robinson VA, Jones W, Baron P, Shi X, Castranova V (2001) Activation of mitogen-activated protein kinase p38 and extracellular signal-regulated kinase is involved in glass fiber-induced tumor necrosis factor-alpha production in macrophages. *J Biol Chem* 276: 5360–5367

1416 MAK Value Documentations

- Zhong BZ, Ong T, Whong WZ (1997) Studies on the relationship between condition treatment and micronucleus induction in V79 cells exposed to silica and glass fibers. *Mutat Res* 391: 111–116
- Zocchi L (2002) Physiology and pathophysiology of pleural fluid turnover. *Eur Respir J* 20: 1545–1558

Abgeschlossen am 21. Juli 2016