

Toxikologische Bewertung von Nanomaterialien

Dr. Carsten Kneuer

ISO/TS 27687:2008

Nanomaßstab: Größenbereich von etwa 1 bis 100 Nanometer

Nanoobjekt: Material mit einem, zwei oder drei Außenmaß(en) im Nanomaßstab

Produkte der Nanotechnologien



Haushalt
Farben / Oberflächenbeschichtungen
Gesundheit
Textilien
Körperpflege
Garten und Haustiere



Nano-Silber – der Glanz täuscht

Immer mehr Konsumprodukte
trotz Risiken für Umwelt und Gesundheit

BUND (2009)

Inflation der Partikel

SZ 3.12.09

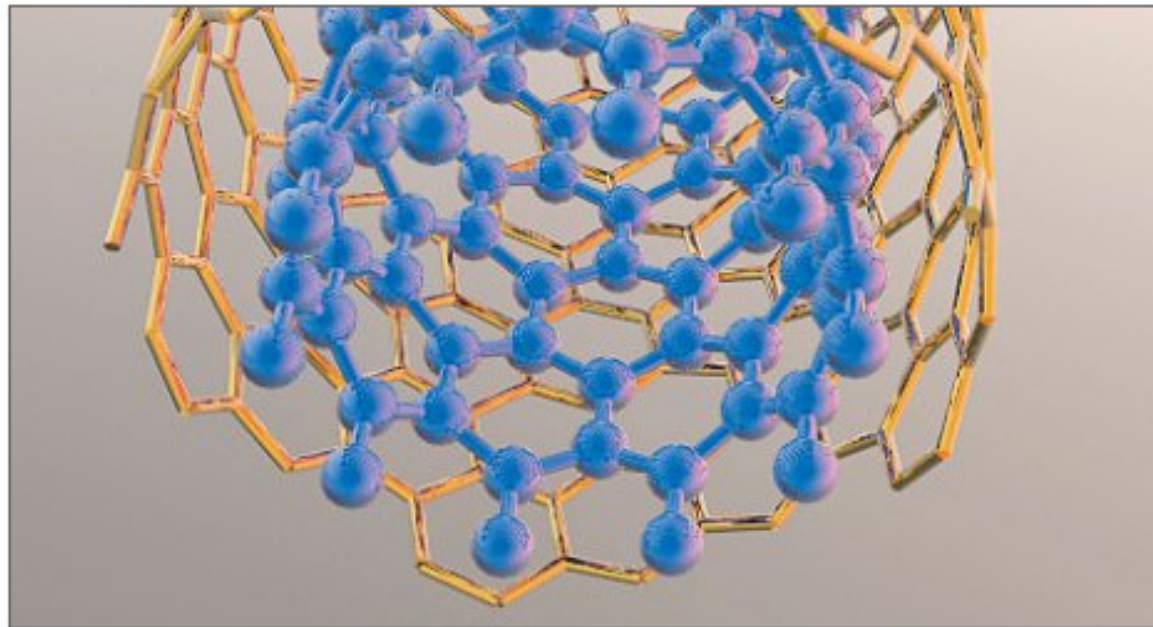
Viele Produkte enthalten Silber-Nanoteilchen – Umweltschützer warnen vor Risiken

Süddeutsche Zeitung (3.12.2009)

Sicherheitsdiskussion Nanotechnologie

Experiment an Mäusen

Nanoröhren schädigen Lungengewebe



Nanoröhren aus Kohlenstoff: Gut für die Industrie, schlecht für die Gesundheit?

Viele Pro

Spiegel (26.10.2009)

ht

produkte

Gesundheit

BUND (2009)

el

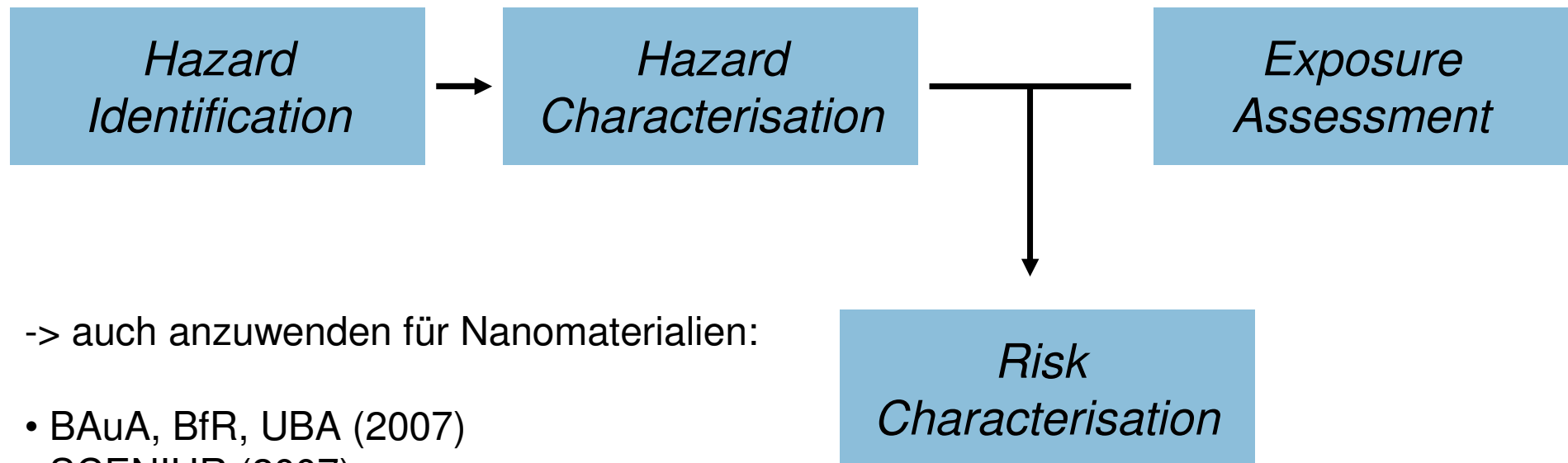
SZ 3.12.09

er warnen vor Risiken

Süddeutsche Zeitung (3.12.2009)

➔ Bedarf für eine wissenschaftlich fundierte Bewertung gesundheitlicher Wirkungen von Nanomaterialien

International anerkanntes risikoorientiertes Vorgehen:



-> auch anzuwenden für Nanomaterialien:

- BAuA, BfR, UBA (2007)
- SCENIHR (2007)
- EFSA (2009)
- FAO/WHO (2009)

➔ Bedarf für eine wissenschaftlich fundierte Bewertung gesundheitlicher Wirkungen von Nanomaterialien

International anerkanntes risikoorientiertes Vorgehen:

- *Problemstellung*

• Was bedeutet „*Hazard Identification*“, „*Hazard Characterisation*“, „*Risk Assessment*“ etc.

```
graph LR; A[„Hazard Identification“] --> B[„Hazard Characterisation“]; B --> C[„Risk Assessment“];
```

- Welche Probleme treten in den einzelnen Schritten auf

- Welche Problemlösungsoptionen sind denkbar

- Gibt es alternative Bewertungsansätze

- BAuA, BfR, UBA (2007)
- SCENIHR (2007)
- EFSA (2009)
- FAO/WHO (2009)

Identifizierung von Gefährdungspotenzialen / Hazard Identification

Gegenstand:

- Erfassung der Wirkungsqualitäten und Zielgewebe

Wie?

-> OECD Testmethoden (*in vivo* / *in vitro*) zu

- Akute Toxizität (oral / dermal / inhalativ)
- Haut- und Augenreizung, Hautsensibilisierung
- Metabolismus, Hautresorption
- Subakute, Subchronische, Chronische Tox
- Mutagenität, Karzinogenität, Reprotox

Einschränkungen
hinsichtlich
Probenvorbereitung &
-charakterisierung,

sowie der Relevanz
einzelner Methoden
und Befunde

-> Medizinische Daten

-> Alternativmethoden (insb. *in vitro*)

-> Übertragung vorhandener Daten (Read-Across, QSAR, PPR)

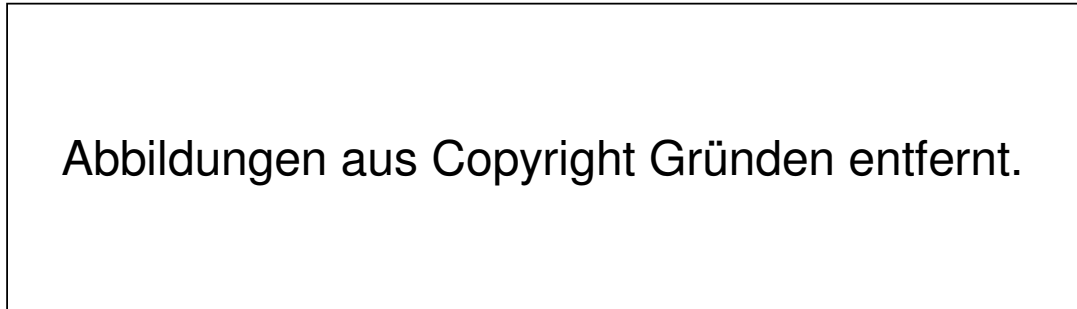
Rattenhaut, intakt (24h)

„flexed skin“ (8h)

Dermale Absorption in vitro

(Zhang et al., 2008)

**Quantum Dots
6 x 12 nm**



4,6 nm

Identifizierung von Gefährdungspotenzialen / „Hazard Identification“

Gegenstand: Erfassung der Wirkungsqualitäten und Zielgewebe

-> OECD Testmethoden (*in vivo* / *in vitro*) zu

- Akute Toxizität (oral / dermal / inhalativ)
- Haut- und Augenreizung, Hautsensibilisierung
- Metabolismus, Hautresorption
- Subakute, Subchronische, Chronische Tox
- Mutagenität, Karzinogenität, Reprotox

Einschränkungen
hinsichtlich
Probenvorbereitung &
-charakterisierung,

sowie der Relevanz
einzelner Methoden
und Befunde

-> Medizinische Daten

-> Alternativmethoden (insb. *in vitro*)

-> Übertragung vorhandener Daten (Read-Across, QSAR, PPR)

QSAR: Quantitative Struktur-Wirkungs-Beziehungen

PPR: Property-Property Relationships

Übertragbarkeit (read-across) Silber – Nanosilber „Hazard Identificaton“ nach wiederholter oraler Gabe

Silber: Basis der Referenzwerte von WHO, US EPA, EFSA für orale Silberaufnahme

US EPA: LOAEL = 1 g (Einzeldosis, i.v.)
Argyrose in Patienten

WHO / EFSA: NOAEL = 10 g (oral, kumulativ)
Epidemiologie, Argyrose

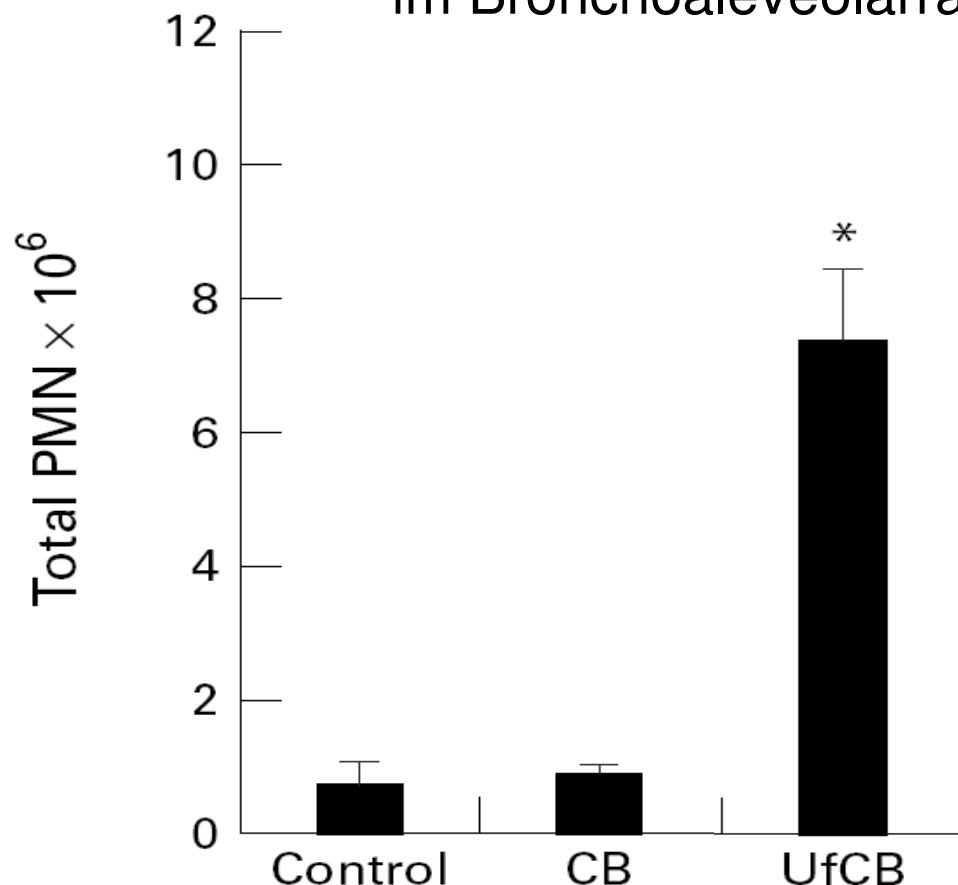
nano-Ag keystudy: Kim et al., 28day Oral Toxicity, 2008 (60 nm Ag-NP, OECD TG 407)

Hepatotox: ALP ↑, cholesterol ↑, bile duct hyperplasia, Infiltrates
300 mg/kg KM/d
(F: hämatologische Effekte)

Übertragbarkeit

Inflammatorisches Potenzial vs. Partikelgröße

Neutrophile Granulozyten im Bronchoalveolarraum



24 h nach Installation
500 µg / Ratte
„Carbon Black“

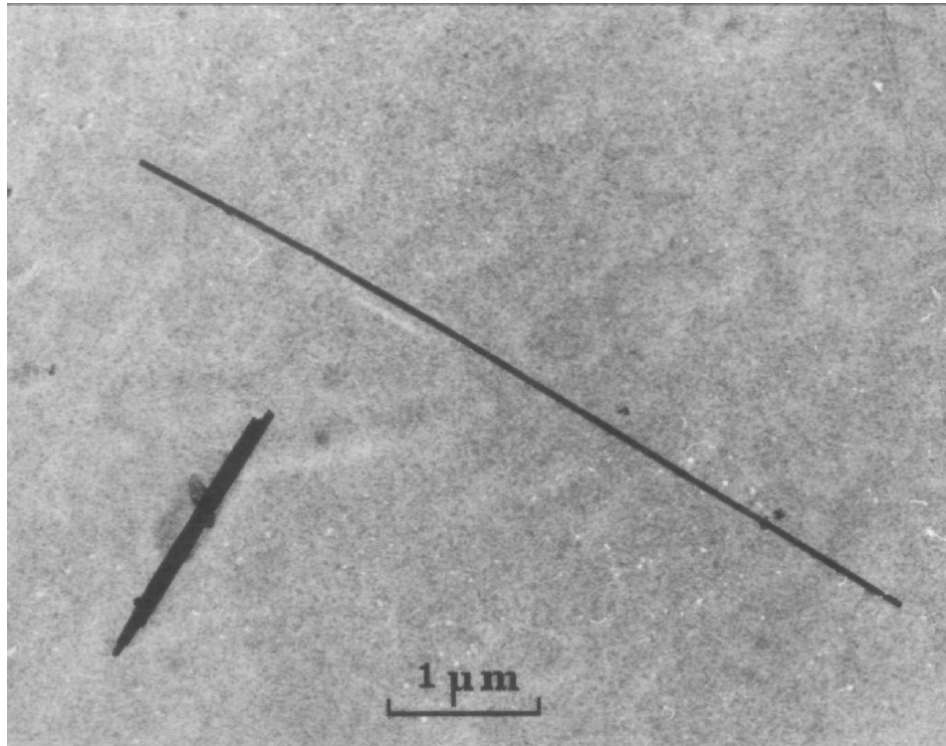
UfCB: 14 nm
CB: 320 nm

Brown et al., 2000

Mögliche Ursachen „nanospezifischer“ Wirkungen

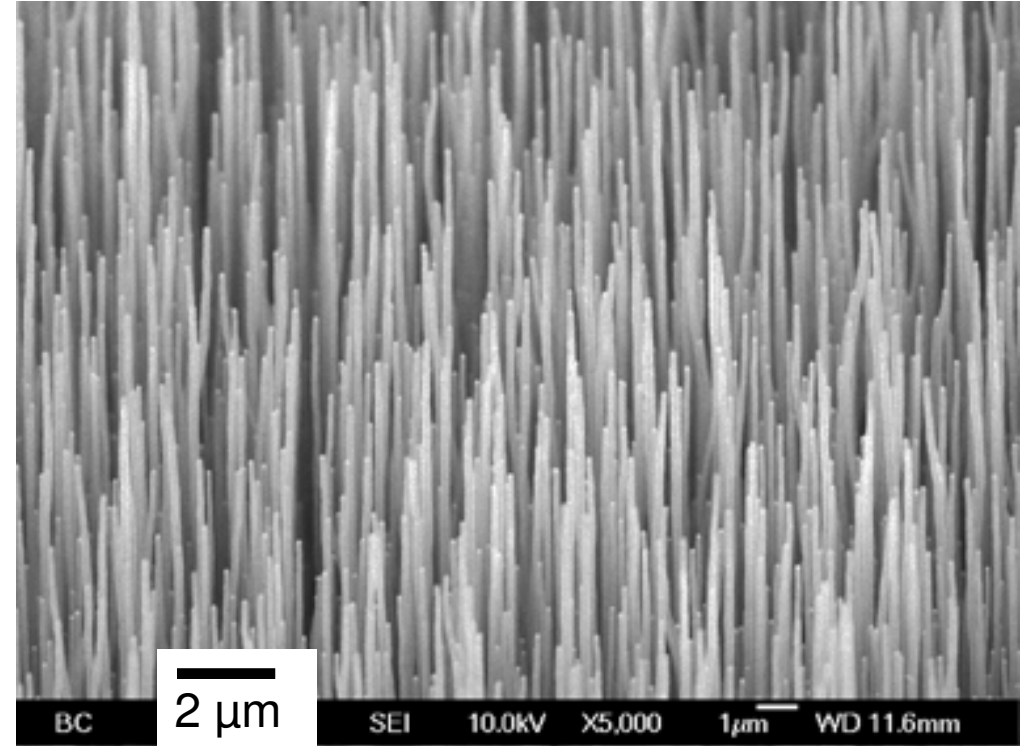
- besondere **Größe und Morphologie**
 - > veränderte Wechselwirkungen mit Zellen & Geweben
- vergrößertes **Oberflächen-/Massen-Verhältnis**
 - > Oberflächeneigenschaften spielen gegenüber den Massen-/Volumeneigenschaften eine zunehmende Rolle
- **Übergangsbereich** zu atomaren Einheiten
 - > quantenphysikalische Effekte werden wirksam
 - > veränderte mechanische, optische, magnetische, elektrische oder katalytische Eigenschaften

Identifizierung von Gefährdungspotenzialen / „Read-Across“ ausgehend von Materialeigenschaften



Krokydolith

(Asbestmodifikation)
Hwang & Gibbs, 1981



Kohlenstoffnanoröhren

(CNT Array)
NanoLab, 2008

Mesotheliome durch Kohlenstoffnanoröhren

3 mg MW-CNT je Maus (p53 +/-), intraperitoneal (Takagi et al., 2008)

Abbildungen aus Copyright Gründen entfernt.

„Hazard Identification“: Schlussfolgerungen

Zusätzlich zu den Eigenschaften der molekularen und der „bulk“-Form sind „nanospezifische“ Eigenschaften zu berücksichtigen:

a) quantitativ

- vergrößerte Oberfläche und –reaktivität

b) qualitativ

- neue, teils gezielt erzeugte/genutzte Eigenschaften

- Besonderheiten durch Morphologie und Größe /
Dimension

Gefahrenbeschreibung / „*Hazard Characterisation*“

Gegenstand:

- Quantitative Beschreibung der toxischen Wirkpotenziale
- Grundlage zur Ableitung von Grenzwerten und Berechnung von Sicherheitsabständen

Wie?

- > Ableitung von Dosis-Wirkungs-Beziehungen
- > Hinweise auf Speziesunterschiede und sensitive Untergruppen sammeln
- > Aufklärung des Wirkmechanismus

Dosis-Wirkungs-Beziehung für „Nanosilber“ bei inhalativer Belastung

Sung et al., 90day inhalation Toxicity (Rat), 2008 and 2009: ~18 nm Ag-NP

TABLE 3
Incidence and severity of silver nanoparticle-related microscopic findings in lungs

Tissue/finding	mg/m ³ : 0 Control	Males			Females			
		0,05 Low	0,13 Middle	0,51 High	Control	Low	Middle	High
Number examined	10	10	10	10	10	10	10	10
Accumulation, macrophages:								
Alveolar minimal	3	5	5	8	7	4	4	6
Inflammation, chronic:								
Alveolar minimal	2	3	2	7	3	2	—	8
Infiltrate: mixed cells								
Perivascular minimal	3	4	6	8	—	—	1	7

weitere Effekte bei 0.51 mg/m³:

Veränderungen der Lungenfunktion

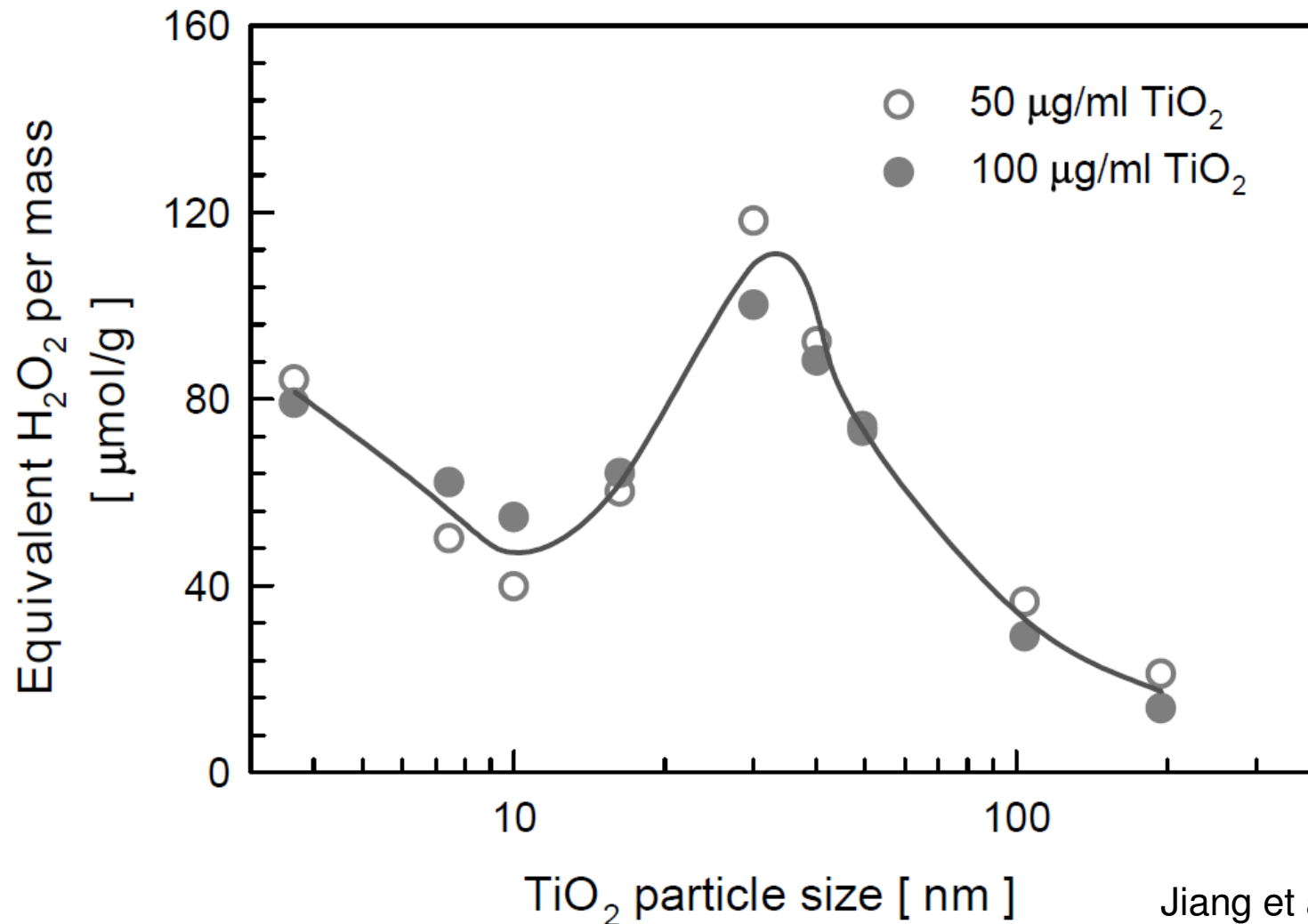
(tidal volume ↓, minute volume ↓, peak inspiratory flow ↓)

Hepatotoxizität

ebenfalls: LDH ↑, albumin ↑, cell numbers ↑

-> NOAEL/LOAEL: 0,13/0,51 mg/m³

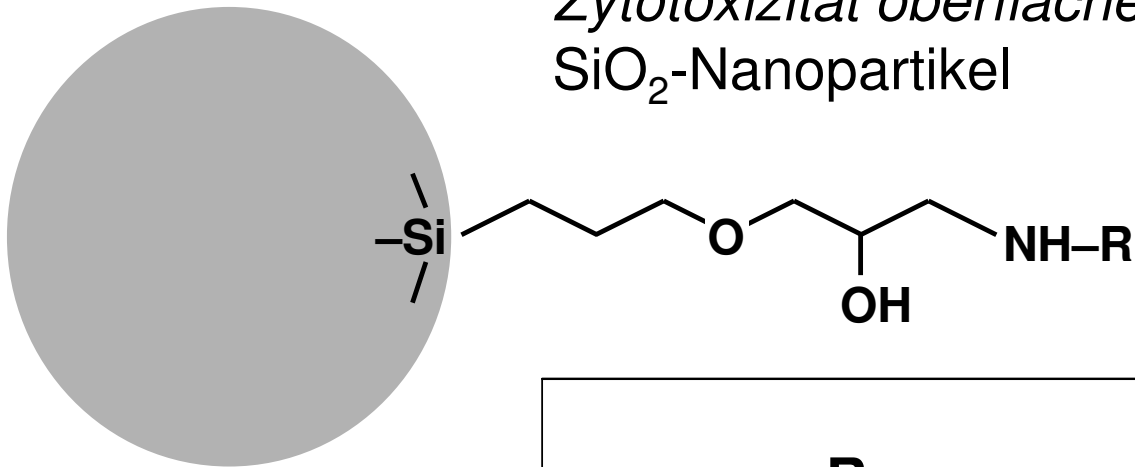
Übertragbarkeit von Dosis-Wirkungsbeziehungen innerhalb einer Materialklasse ?



Jiang et al., 2008

Übertragbarkeit von Dosis-Wirkungsbeziehungen innerhalb einer Materialklasse bei „geringfügigen“ Unterschieden?

Zytotoxizität oberflächenmodifizierter SiO₂-Nanopartikel



R	IC ₅₀ [mg/ml]
	> 5
	4.2
	1.25

Kneuer et al., 2001, unpublished report

Vergleich Dosis-Wirkungsbeziehungen von Kohlenstoffnanoröhrchen (MW-CNT) nach Inhalation

BAYTUBES
(Pauluhn, 2010)

Wistar Ratten, inhalativ
13 Wochen
5 Tage/Woche
6 h/Tag

0 mg/m ³	-
0,1 mg/m ³	-
0,4 mg/m ³	+
1,5 mg/m ³	++
6,0 mg/m ³	+++

Endpunkt: entzündliche und fibrotische Veränderungen

Grenzwertvorschlag: 0,05 mg/m³

NANOCYL NC 7000
(Ma-Hock et al., 2009)

Wistar Ratten, inhalativ
13 Wochen
5 Tage/Woche
6 h/Tag

0 mg/m ³	-
0,1 mg/m ³	+
0,5 mg/m ³	++
2,5 mg/m ³	+++

Endpunkt: entzündliche und fibrotische Veränderungen

Grenzwertvorschlag: 0,0025 mg/m³

„Hazard Characterisation“: Schlussfolgerungen

- Dosis-Wirkungsbeziehungen für nanospezifische Effekte können ermittelt werden.
- Übertragbarkeit zwischen „vergleichbaren“ Nanomaterialien prüfen
- Beeinflussung durch Probenaufbereitung, Verunreinigungen, Tierart/-stamm berücksichtigen

Risikobewertung / „Risk Characterisation“

-> **Quantitative Bewertung des Risikos durch Abgleich von „Hazard“ und „Exposure“**

- Ableitung von Grenzwerten,
- Berechnung der Grenzwertausschöpfung

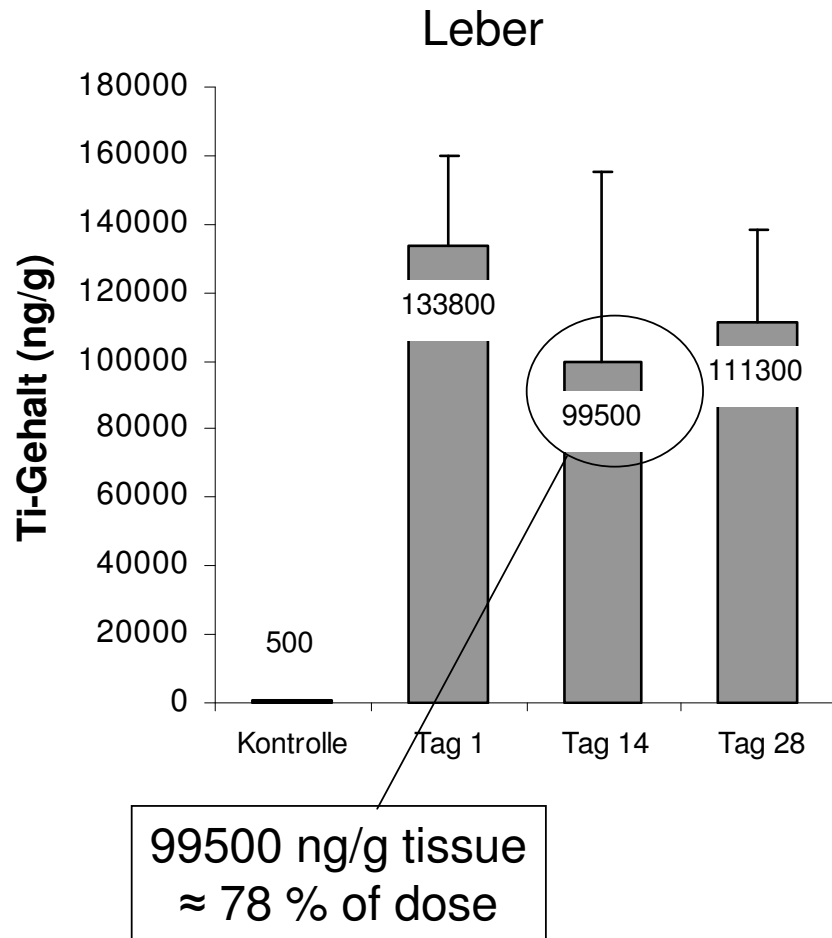
- Berechnung von Sicherheitsabständen (MoE, MoS),
- Bewertung dieser

NOAEL

- Interspezies-Extrapolation: „default“ Annahme = x 10 (4x2,5)
- Intraspezies-Variabilität: „default“ Annahme = x 10 (3,2x3,2)
- **Zeitextrapolation**
- **Dosimetrik**
- **materialbedingte Unsicherheitsfaktoren ?**

Grenzwert

Zeitextrapolation: Toxikokinetik von TiO₂ (100nm),systemisch

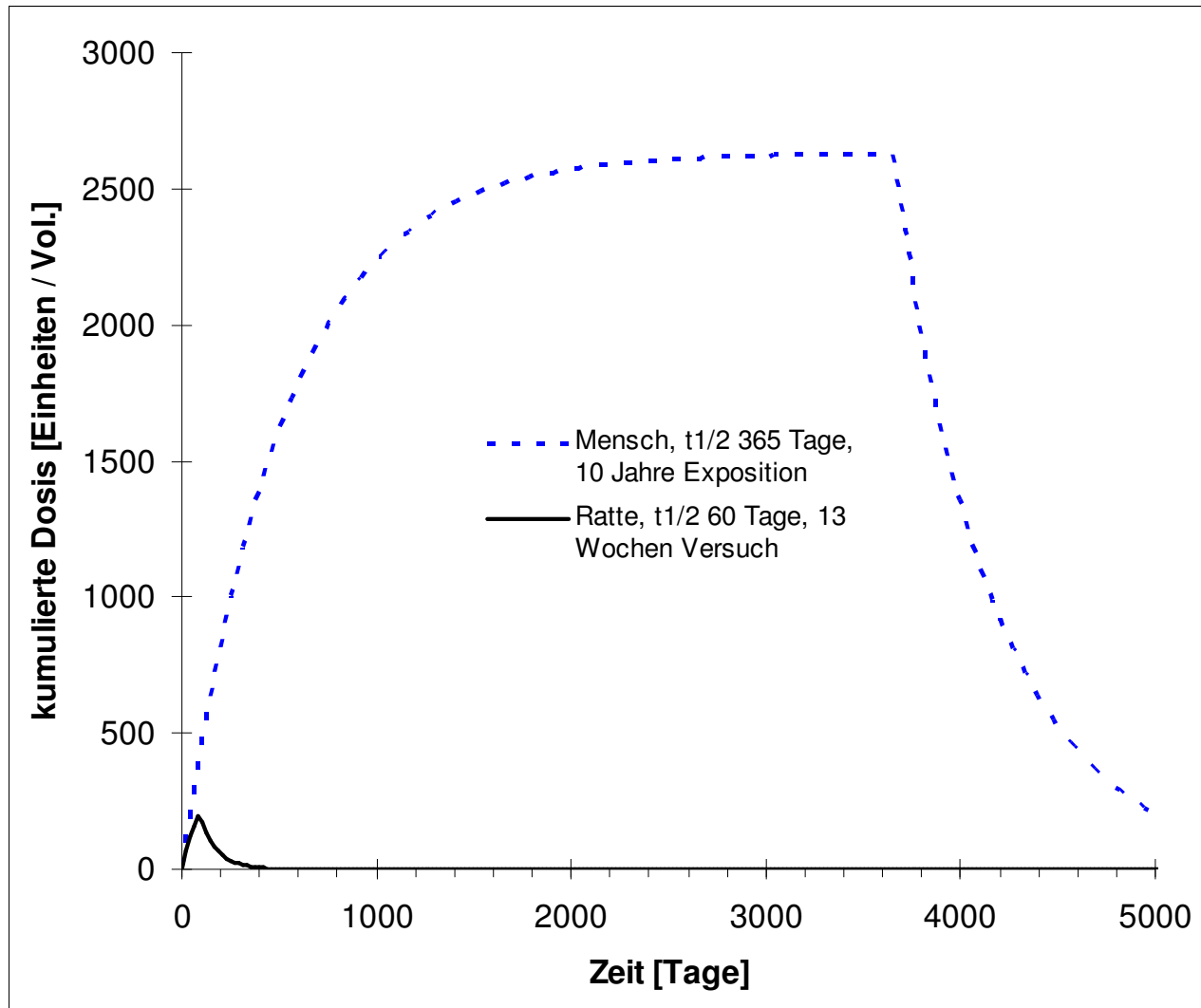


Fabian et al. (2008):

- Ratte
- einmalige Gabe i.v.
- 5 mg/kg (i.v.)
- Bestimmung der Ti-Gehalte von Leber und anderen Organen

-> **Akkumulation ?**

Zeitextrapolation: Kumulation unlöslicher Partikel in der Lunge

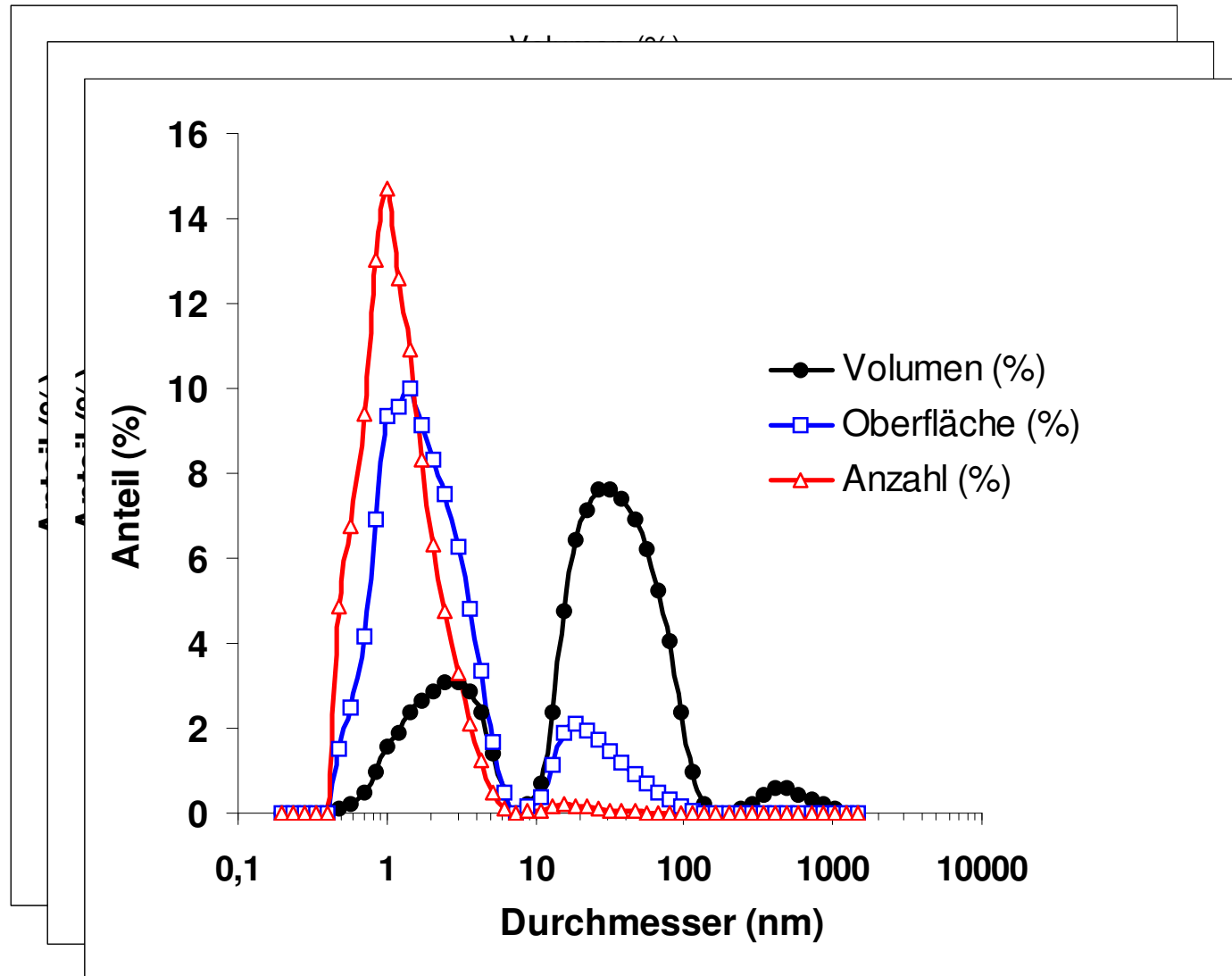


Pauluhn (2010):
MW-CNT
90-Tage Inhalation
Ratten

Snipes (1989)
Long-Term Retention
and Clearance
of Particles Inhaled by
Mammalian
Species

Dosimetrie

Charakterisierung des Probenmaterials

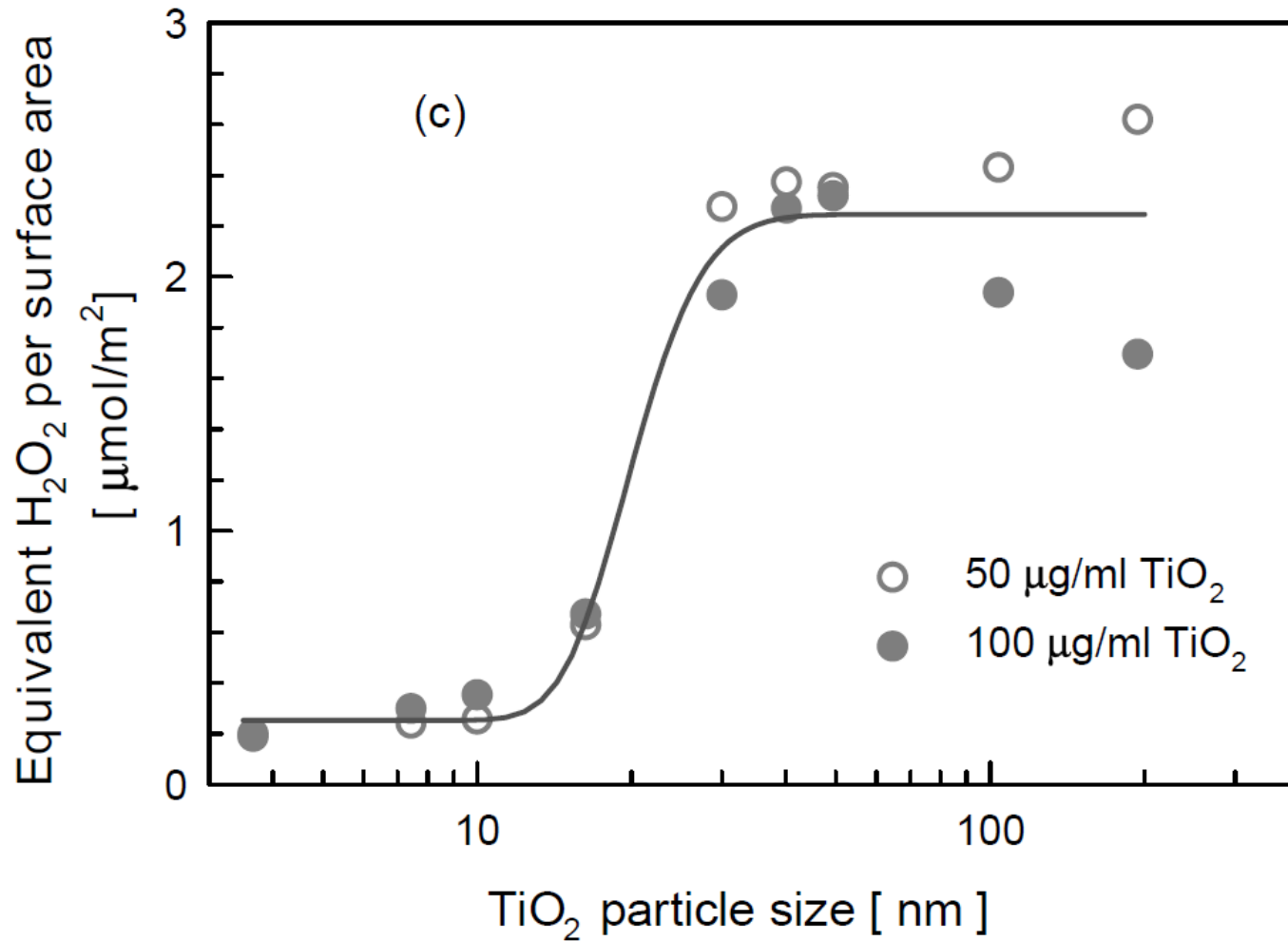


Dosimetrie,
z.B.:

- mg/kg KM
- m²/kg KM
- Anzahl/Tier

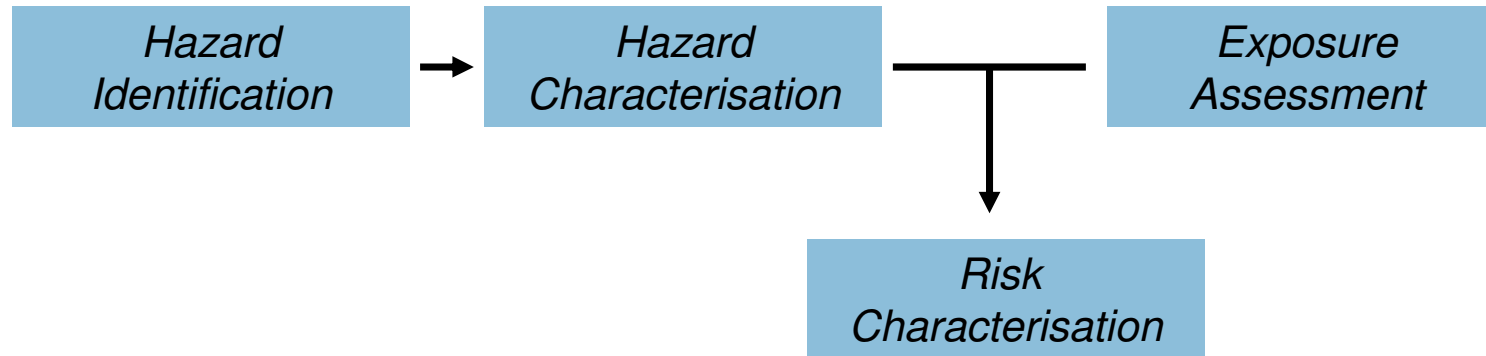
Material-bedingte Unsicherheiten

Beispiel: ROS Bildung / Oberfläche an TiO₂



Jiang et al., 2008

Wissenschaftlich fundierte Bewertung gesundheitlicher Wirkungen von Nanomaterialien



- Durchführung nach bewährten Grundsätzen möglich
- Datenlücken füllen
- Nanospezifische Eigenschaften erfassen, verstehen und berücksichtigen

-> komplexes Verfahren

Alternativen: Das „Hazard“ - Kategorie Konzept

nach Grundstoff

Material	Kategorie
Carbon black, SiO ₂	„Very low“
TiO ₂ , Polystyren, Au	„Low“
Ag	„High“
Cu	„Very high“

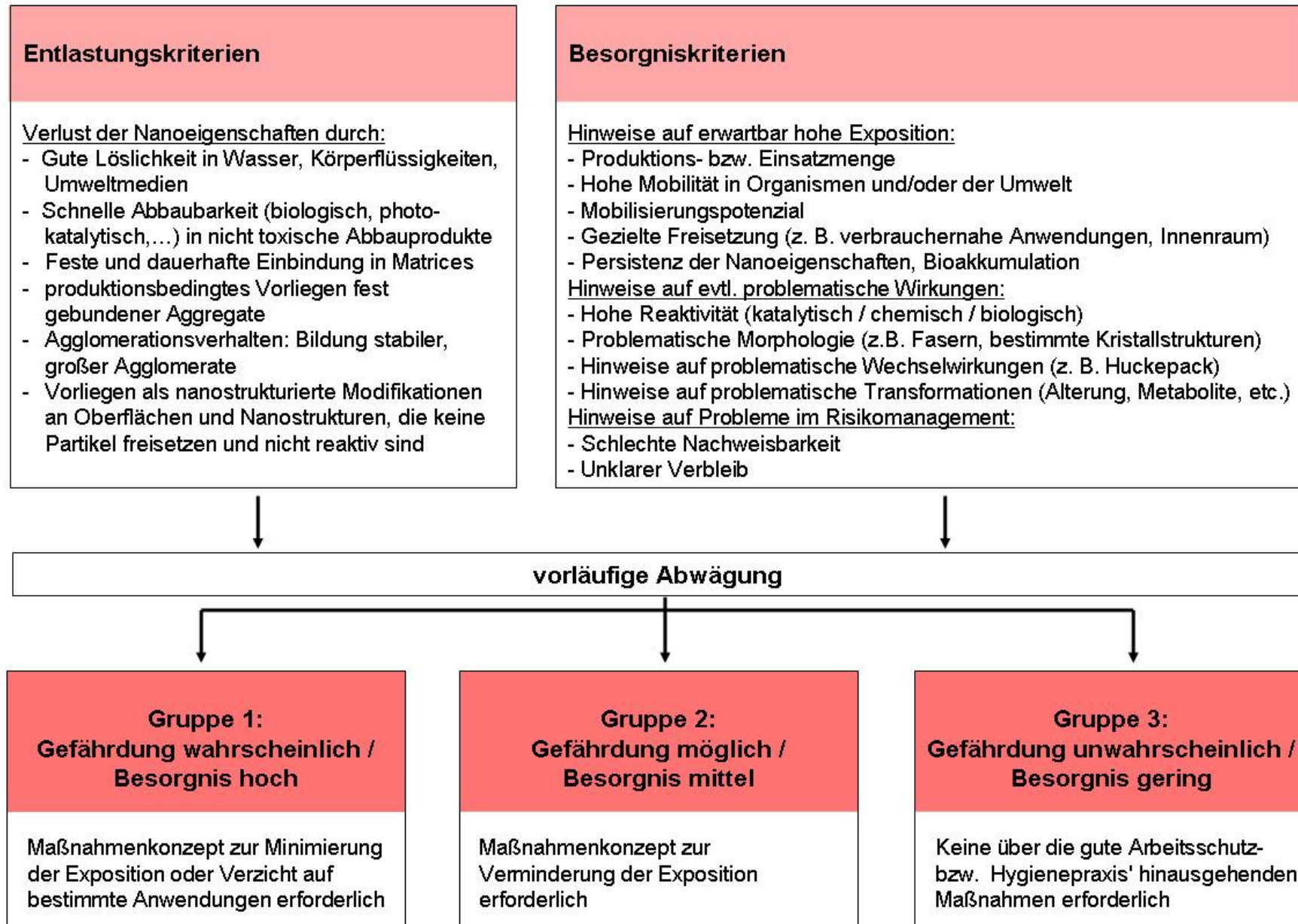
nach Größe (nur Nanofasern)

Länge	Kategorie
< 5 µm	„Low“
> 10 µm	„High“

nach Persistenz

abbaubar	Kategorie
schnell	„Low“
langsam	„High“
nicht	„Very High“

Kriterienkonzept von Nanokommission u.a.



Kriterienkonzept von Nanokommission u.a.

NANO Risk Framework

**Environmental Defense - DuPont
Nano Partnership**

June 2007

Kriterienkonzept von Nanokommission u.a.

NANO Risk Framework

Vorsorgeraster für Synthetische Nanomaterialien

Version 1.0



Schweizerische Eidgenossenschaft
Confédération suisse
Confederazione Svizzera
Confederaziun svizra

Bundesamt für Gesundheit BAG
Bundesamt für Umwelt BAFU



Risiken erkennen – Gesundheit schützen

DANKE FÜR IHRE AUFMERKSAMKEIT

Carsten Kneuer

Bundesinstitut für Risikobewertung

Thielallee 88-92 • D-14195 Berlin

Tel. 0 30 – 1 84 12 - 3470 • Fax 0 30 - 1 84 12 – 3260

carsten.kneuer@bfr.bund.de • www.bfr.bund.de