

Karbon Nanotüpler ve Pulmoner Toksikite

Carbon Nanotubes and Pulmonary Toxicity

Dr. Mehmet BAYRAM

Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul

ÖZET

Karbon nanotüpler birçok yeni ve faydalı özellikleri nedeniyle teknolojiye ve endüstride kullanım alanına sahiptir. Karbon nanotüplerin kullanım alanındaki hızlı genişleme aynı zamanda bu maddelere insanların maruziyetinin de artışı birlikte getirmektedir. Bu nedenle de potansiyel toksik etkileri nedeniyle yakından izlenmektedirler. Bu derlemede nano boyutta ve lifsi yapıda olan karbon nanotüplerin akciğere olan toksik etkileri nanopartiküllerin ve mineral veya insan yapımı lifsi materyallerin toksik etkileri ile ilgili literatürler de göz önünde bulundurularak irdelenecektir. Şu ana kadarki literatür karbon nanotüplerin akciğere toksik etkilerinin olduğu yönündedir. Özellikle karbon nanotüpler mezenkimal hücre çoğalmasını uyarabilir ve granülom ve fibroz oluşumuna neden olabilir. Birçok çalışmada karbon nanotüplerin aynı miktardaki basit karbon ve kuvarstan daha fazla toksik olduğu gösterilmiştir. Çalışmalar karbon nanotüplerin bazı etkilerini oksidatif stres ve inflamasyon üzerinden yaptığını göstermiştir. Ancak şu ana kadarki çalışmalar yine de gerçek yaşamdaki inhalasyonu yansıtmaktan uzaktır ve hava yolları ve parankimde yapay agregat birikiminin olmadığı maruziyet yöntemleri olan çalışma yoktur. Üretimde ve tüketimde hızla artan karbon nanotüpler hakkında toksisite ve güvenli kullanım yolları açısından çok daha fazla araştırma gerektiği açıktır. Şu ana kadarki literatürler doğrultusunda aksi gösterilene kadar karbon nanotüpler biyopersistan toksik fiberler gibi kabul edilmeli ve aynı kontrol, güvenli kullanım prosedürleri uygulanmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Karbon nanotüpler, nanofiberler, pulmoner toksisite

SUMMARY

Carbon nanotubes (CNT) are an important new class of technological materials that have numerous novel and useful properties. The forecast increase in manufacture makes it likely that increasing human exposure will occur, and as a result, CNT are beginning to come under toxicological scrutiny. In this review we aimed to discuss the toxicity of inhaled CNT, building on the toxicological database on nanoparticles (NP) and fibers. CNT could have features of both NP and conventional fibers, and so the current paradigm for fiber toxicology, which is based on mineral fibers and synthetic vitreous fibers, is discussed. The available literature suggests that CNT may have unusual toxicity properties. In particular, CNT seem to have a special ability to stimulate mesenchymal cell growth and to cause granuloma formation and fibrogenesis. In several studies, CNT have more adverse effects than the same mass of NP carbon and quartz. There is, however, no definitive inhalation study available that would avoid the potential for artifactual effects due to large mats and aggregates forming during instillation exposure procedures. Studies also show that CNT may exhibit some of their effects through oxidative stress and inflammation. CNT represent a group of particles that are growing in production and use, and therefore, research into their toxicology and safe use is warranted.

Keywords: Carbon nanotubes, nanofibers, pulmonary toxicity

Yazışma Adresi / Address for Correspondence

Doç. Dr. Mehmet BAYRAM
Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul
e-posta: drmehmetbayram@yahoo.com
DOI: 10.5152/gghs.2015.075

GİRİŞ

Nanoteknoloji global multidisipliner bir alan olup günlük hayatımızda dramatik değişiklik ve iyişmelere neden olan ürünlerin ortaya çıktığı yüzyılın yeni sanayi alanını oluşturmaktadır. Birçok yeni teknolojide olduğu gibi yaşamımıza getirdiği kolaylıklar kadar nanoteknolojinin potansiyel zararı ve güvenilirliği de tartışılmaktadır. Mesleki tıp alanı solunabilir toz partikül nedeniyle oluşan hastalıklarla doludur, bu nedenle nanopartiküllerin güvenilirliği oldukça yoğun incelenmektedir. Nanopartiküller genellikle uzunluğu 100 nm'den küçük partiküllere verilen isim olup, daha önceleri toksikolojide bu maddeler akciğerler, deri veya barsaklar yoluyla vücuda girebildiği için "ultrafine partikül" olarak adlandırılırdı. Halihazırda ultrafine partikül toksikolojisi literatür verileri nanoteknolojiyle üretilen nanopartiküllerin inhalasyon yoluyla verecekleri potansiyel zarar hakkında ipuçları vermektedir.

Bu yazıda yeni majör nanopartikül gruplarından olan karbon nanotüplerin toksikolojik etkileri değerlendirilecektir. Karbon nanotüplerin güvenilirliği üzerindeki endişenin temelinde bu maddelerin üç özelliği yatmaktadır; 1: Nanopartikül olmaları, 2: Lifsi yapıda olamaları ve asbest benzeri şekilde olmaları, 3: Temelde grafitik yapıları nedeniyle biyopersistan olmaları.

KARBON NANOTÜPLER

Esasında karbon nanotüpler bir sayfa şeklindeki karbon grafitini katlanarak silindirik haline getirilmesi ile oluşmaktadır. Karbon nanotüpler 2 grupta sınıflandırılmaktadır; 1- Tek duvarlı karbon nanotüpler 2- Çok duvarlı karbon nanotüpler. Çok duvarlı karbon nanotüpler birden fazla tek duvarlı karbon nanotüplerin iç içe geçmiş halidir. Karbon nanotüpler çelikten 10 kat güçlü ve elmadan 1,2 kat daha serttirler⁽¹⁻³⁾. Karbon nanotüplerin kullanım alanları Tablo 1'de verilmiştir.

Karbon nanotüplerin sentezinde genel olarak 3 yöntem kullanılmaktadır: 1- Ark-deşarj, 2- Kimyasal buhar depozisyonu ve 3- Lazer ablasyon. Ticari amaçla üretilen karbon nanotüplerin çoğu kimyasal buhar depozisyonu yöntemi ile sentezlenir. Katalizör olarak demir kullanılan yüksek basınç karbon monoksit yönteminde karbon kaynağı karbon monoksittir⁽⁴⁾, 2004 yılında tüm dünyada üretilen tek duvarlı karbon nanotüp miktarı 9 ton saptanmıştır⁽⁵⁾. Çok duvarlı karbon nanotüpler de ticari olarak üretilmekte olup, plastik kompozitleri içerisinde kullanılmaktadırlar. Çok duvarlı karbon nanotüplerin 2004'deki üretim miktarı 100 ton olarak tahmin edilmektedir⁽⁵⁾. Sentezlenildikten sonra karbon nanotüpler, amorf karbon ve katalizör olarak kullanılan metal ve diğer destek maddelerinden saflaştırma işlemine tabii tutulurlar.

Tablo 1. Karbon nano tüplerin uygulamaları.

• Enerji Depolama	o Hidrojen depolama, lityum iyon pillerde
	o Elektrot, elektrokimyasal süperkapasitörler
• Elektronik	o Manyetik alan yayma cihazları,
	o Transistörler
• Nano-Cihazlar	o Nano-proplar, nano-sensörler, Nano-yatak ve dişliler

Karbon nanotüpler sentezlenme prosedürüne bağlı olarak oldukça değişken boy ve çapta olabilirler. Boy olarak genellikle 10 mikron civarında üretilirler. Yine de çok uzun ve çok kısa nanotüpler olabilmektedir⁽⁶⁾. Temizlenmiş ve işlenmiş karbon nanotüpler purifikasyon işleminin destrüktif şartları nedeniyle ham karbon nanotüplerden daha kısadırlar⁽⁷⁾. Tek duvarlı karbon nanotüpler üzerinde yerleştikleri metal nanopartikülün boyuna bağlı olarak 0,7 ila 3 nm boyunda olmaktadır⁽⁸⁾. Çok duvarlı karbon nanotüpler genellikle 10 ila 200 nm boyutundadırlar⁽⁹⁾. Karbon nanotüplerin örülmesi ile oluşan iplerin dayanıklılığı van der Waals kuvvetlerinin de katkısı ile çok daha fazla olmaktadır⁽¹⁰⁾. Bu örgüler tipik olarak onlarca nanotüp içerebilmekte ve sonuçta kendisini oluşturan nanotüplerin boyundan çok uzun boyutlara oluşabilmektedir. Karbon nanotüpler büyük agregatlar halindeyken sürfaktan maddelerin yardımı olmadan tek lif haline ya da küçük kümeler haline gelemeyizler ve suda çözünmezler. Boyutlarının küçük olmasından dolayı oldukça geniş yüzey alanına sahiptirler ve yüzey alanları; uzunluk, çap ve kümeleşme derecesine bağlı olarak değişkendir. Teorik olarak ayrık tek duvarlı karbon nanotüpün yüzey alanı ~1300 m²/g, ve çok duvarlı karbon nanotüplerin yüzey alanı birkaç yüz m²/g kabul edilir⁽¹¹⁾. Kümeleşmenin sonucu olarak genellikle çok duvarlı karbon nanotüplerin yüzey alanı ~300 m²/g, veya daha azı kabul edilir ki bu değer bile oldukça yüksektir⁽¹²⁾.

Karbon Nanotüplerle İlişkili Partikül Toksikolojisi

Partiküller zararlı etkilerini iki faktörün sonucu olarak gösterirler: yüzey alanları ve reaktivite⁽¹³⁾. Küçük partiküller birim kütle başına daha fazla yüzey alanına sahiptirler. Bu nedenle herhangi bir partikül yüzeyi ile ilişkili toksisite daha belirgin olmaktadır⁽¹⁴⁾. Bu nedenle partiküller küçüldükçe akciğere verdikleri zarar olasılığı artmaktadır. Bu yüzden göreceli olarak inert yüzeyi olan partiküllerin bile yüzey alanının artması ile hücreye olan etkileri artabilmektedir. Yüksek reaktif yüzey alanına sahip partiküller geniş yüzey alanı olmadan da hücreleri etkileyebilmektedirler.

Hali hazırda çok basit formlardan [pür karbon veya titanyum dioksit (TiO_2)] yüzeyi modifiye edilmiş veya kaplanmış kompleks yapılara kadar nanopartiküller mevcuttur. Nanoteknoloji endüstrisi her an yeni tür nanopartikül geliştirmektedir ve bu materyallerin toksikolojik özellikleri bilinmemektedir.

Çevre kirliliğinin sonucu olarak oldukça yüksek miktarda nanopartiküllere maruz kalındığı uzun zamandır bilinmektedir⁽¹⁵⁾. Bu doğrultuda içten yanmalı motorlardan çıkan egzoz nanopartiküllerinin hava yolu hastalıkları alevlenmesi, hatta kardiyovasküler hastalıklardan hastaneye yatış ve ölüm gibi istenmeyen etkileri gösterilmiştir. Egzoz nanopartiküllerine bağlı akciğer hasarı oksidatif stres aracılığıyla partikül yüzeyinin etkisiyle oluşan hücre hasarı ve akciğer inflamasyon şeklinde olmaktadır⁽¹⁶⁾. Oksidatif stres; egzoz nanopartiküllerinin geniş yüzey alanı, metal ve organik molekül içermeleri nedeni ile olmaktadır. Oksidatif stresin sonucunda pro-inflamatuar proteinler salınmakta ve inflamasyon ise uzun dönemde hava yolu hastalığı, kardiyovasküler hastalık, fibrozis ve kanser gibi patolojilere neden olmaktadır⁽¹⁷⁾. Rat akciğerinin düşük toksite etkisine sahip ultrafine karbon ve TiO_2 gibi düşük toksite etkisine sahip partiküllere bile yüksek derecede maruziyete bağlı nonspesifik cevap görülmüştür⁽¹⁸⁾. Yakın zamanlarda rat akciğerlerinde karbon nanopartiküllere düşük konsantrasyonda (1000 mg/m^3) ve kısa sürede (7 saat) maruziyette de orta düzeyde inflamatuar yanıt geliştiği gösterilmiştir⁽¹⁹⁾. Çok küçük partiküller ve yapılar konvansiyonel partiküllerden farklı olarak çok daha farklı etkilere sebep olabilmektedir. Örneğin bu nanopartiküller normal fagositik savunma mekanizmalarınca yok edilmeyip kan ve beyin bariyer sistemini geçebilmektedirler. Bazı partiküller o kadar küçüktürler ki protein yapıları modifiye olmuş haptenler gibi davranırlar ve bu proteinlere karşı antijenik veya otoimmün reaksiyon geliştirebilirler⁽²⁰⁾.

Lif toksikolojisi ile ilgili bilgilerin çoğu asbestten üretilmiş olup ayrıca sentetik vitroz fiberler de liflerin uzunluğu, biyopersistansı ve patojenitesi hakkındaki bilgilere katkıda bulunmuştur⁽²¹⁾; lifsi materyallerin akciğer kanseri ve mezotelyomaya neden olduğu uzun yıllar önce gösterilmiştir. Birçok ülkede asbest kullanımındaki azalmaya rağmen mezotelyoma ile ilişkili ölümlerde (bu hastalığın yegane nedeni asbest ve diğer lifsi doğal minerallere maruziyet kabul edilmektedir) artış devam etmektedir. Liflerin akciğerdeki hastalıkları yapmasında öngörülen patolojiler oksidatif stres, inflamasyon, direkt veya indirekt yoldan geno-toksitesidir⁽²¹⁾.

Eğer yeterince ince ise çok uzun lifler akciğerin distaline ulaşabilirler. Karbon nanotüplerin akciğerde birikmesi alındığı forma göre değişkenlik göstermektedir. Agregat formunda karbon nanopartiküllerin akciğerde birikme olasılığı yüksektir.

Uzunluk liflerin önemli bir özelliği olup patojenitelelerini belirler. Bir grup rat uzun amozit liflerine diğer grup ise aynı amozit liflerini öğütülerek kısaltılmış hallerine maruz bırakılmışlardır (Davis 1996)⁽²²⁾. Aynı miktardaki inhalasyon maruziyeti ile uzun fiberlerde belirgin olarak daha fazla fibrozis ve kanser saptanmıştır. Yine uzun grupta mezotelyoma görülürken kısa amozit grubunda mezotelyoma görülmemiştir⁽²²⁾.

Uzun lifler genellikle makrofajların boyutlarından daha büyük olup 10-20 mm'ye kadar çıkabilmektedir. Bu nedenle alveoler makrofajlar bu lifleri fagosite edemezler. Sonuçta büyük lifler küçük liflere göre akciğerden daha uzun sürede temizlenirler^(23, 24). Bu nedenle de uzun süren maruziyette uzun liflerin dozu giderek artar. Lifsi yapıların kimyasal olarak çözünmemesi, kırılmaması, bozulmaması durumunda akciğerde kalmaları ile biyopersistansın söz edilir. Bir lif yapının biyopersistansı ne kadar yüksekse akciğere olan toksisitesi de o kadar çok olacaktır.

Asbest lifleri silikat kristalleri şeklinde olup bu kristal yapıların şekline göre amfibol veya krizotil olarak sınıflandırılırlar. Amfibol lifleri düz, krizotil ise dalgalı yapıda olup amfibollerin biyopersistansı krizotile göre oldukça yüksektir. Kanada'da krizotil madeninde çalışan asbest işçilerinde tremolit (amfibol)/krizotil oranının zamanla arttığı gösterilmiştir⁽²⁵⁾. Aynı şekilde sentetik vitroz fiberlerde de biyopersistansın en önemli patojenik faktör olduğu gösterilmiştir⁽²⁶⁾. Bu nedenle daha az biyopersistan fiber üretim konusundanda endüstriye zorlamalar getirilmektedir.

Karbon Nanotüplerin Toksikolojik Etkileri

Karbon nanotüplerin yukarıda bahsedilen sentezi, boyutu, kompozisyonu sonucunda hem nanopartikül olmaları hem de lifsi yapıda olmaları nedeni ile patolojik etkileri katlanmaktadır. Karbon nanotüpler 20 μm 'den daha uzunsu sentetik vitroz fiber olarak adlandırılırlar ve inhale edilmeleri durumunda rat ve insanlarda uzun biyopersistan fiberler gibi davranacağı beklenebilir. Bu durumda oluşacak patolojiler fibrozis, akciğer kanseri ve mezotelyomadır. Tek duvarlı karbon nanotüpler ince olmakla birlikte; ancak krizotil asbest liflerinden daha ince değildirler⁽²⁷⁾. Krizotil lifleri insan akciğerlerinde non-biyopersistan kabul edilirler⁽²⁸⁾. In vivo hayvan çalışmalarında nihai olarak karsinogenez ve özellikle mezotelyoma gelişimini incelenmektedir. Bu çalışmalarda genel olarak pozitif kontrol olarak amfibol tipi asbest kullanılmaktadır. Karbon nanotüplerin mezotelyoma ile olan ilişkisi ilk defa 2008 yılında yapılan p53 geni baskılanmış hayvanlarda intraperitoneal çok duvarlı karbon nanotüp verilmesiyle mezotelyoma geliştiği gösterilmiştir⁽²⁹⁾. Bu çalışmadan bir yıl sonra genetik olarak sağlam ratlarda intraskrotal çok duvarlı karbon

nanotüp verilmesinden 40 hafta sonra mezotelyoma geliştiği gösterilmiştir⁽³⁰⁾. Poland ve arkadaşları⁽³¹⁾ uzun çok duvarlı karbon nanotüplerin (>15 µm) abdomen içine püskürtülmesi sonucu karın duvarında asbest benzeri inflamasyon ve granülom formasyonu olduğu ancak kısa boylu çok duvarlı karbon nanotüplerle bu reaksiyonların oluşmadığını bildirmişlerdir. Yakın zamanda yapılmış bir çalışmada yine p53 geni baskılanmış ratlarda abdominal kaviteye farklı konsantrasyonda çok duvarlı karbon nanotüp verilmiş, doz arttıkça mezotelyoma nedeniyle ölüm oranının arttığı gösterilmiştir. Yine bu çalışmada ratlarda mezotelyomaya neden olan en düşük konsantrasyon 10⁶ lif/rat olarak bildirilmiştir⁽³²⁾. Lam ve arkadaşları⁽³³⁾ farelerde tek seferde trakeaya tek duvarlı karbon nanotüplerin püskürtülmesinin doza bağımlı olarak epiteloid granümlara ve ve interstisyel inflamasyona neden olduğunu göstermişlerdir. Yine bu çalışmada bir grup fareye aynı miktarda kuvarz diğer bir gruba aynı miktarda saf karbon partikülleri verilmiş ve yazarlar eşit miktardaki saf karbon ve kuvarz partiküllerine nazaran tek duvarlı karbon nanotüplerin daha toksik olduğunu belirtmişlerdir.

Sentezin tipine bağlı olarak karbon nanotüpler aslında işlevlerinde çok da gerekli olmayan kontamine halde metaller barındırır. Kobalt, demir, nikel ve molibden gibi toksik etkileri gösterilmiş metaller sık bulunur. Bu metallerin özellikle redoks tepkimesi üzerine etkileri vardır ve oksidatif strese neden olurlar⁽³⁴⁾. Bu nedenle karbon nanotüplerin toksik etkilerinden bahsedilirken bu solubl metallerin de toksik etkileri göz önünde bulundurulmalıdır.

Bazı nanopartiküller biriktiği akciğerden kana ve beyine göç edebilmektedirler, uğrayabilmektedirler^(35, 36). Karbon nanotüplerin bu özelliğe sahip olduğunu gösteren henüz bir çalışma bulunmamakla birlikte, bu partiküllerin plevraya göç edebilecekleri düşünülebilir.

Karbon nanotüplerin toksisiteleri üzerine yapılan in vivo çalışmalarda gerçek yaşama en yakın olan inhalasyon tekniği kullanılmamakta genellikle trakeal instilasyon yöntemi kullanılmaktadır. Ayrıca bu çalışmalarda normalden daha yüksek dozlar kullanılmaktadır. Oysaki gerçek yaşamda çoğunlukla asbest liflerine olduğu gibi bu partiküllere maruziyet inhalasyon yoluyla ve uzun dönemde düşük konsantrasyonlarda olmaktadır. Tüm bu çalışmalar değerlendirilirken bu metodolojik biaslar da göz önünde bulundurulmalıdır.

SONUÇ

Karbon nanotüpler kendine has özellikleri nedeni ile teknoloji ve endüstride pek çok kullanım alanın giren teknoloji ürünü materyallerdir. İmalat ve kullanımdaki artış tahmini aynı zamanda maruziyet olasılığını da arttırmaktadır. Bu nedenle de toksikolo-

ji camiası tarafından oldukça yakından takip edilmektedir. Şu ana kadarki literatür karbon nanotüplerin hem nanopartikül özellikleri hem de konvansiyonel fiber özelliklerine sahip olduğunu göstermiştir. Karbon nanotüpler kitle etkisinden daha ötede toksik etkilerinin olabileceğini göstermektedir. Örneğin aynı miktardaki karbon nanopartiküllerinin kuvarzdan daha fazla istenmeyen yan etkileri olduğu gösterilmiştir. Mezenkimal hücre çoğalmasını uyarabileceği görülmektedir. Ancak şu ana kadarki çalışmalar yine de gerçek yaşamdaki inhalasyonu yansıtmaktan uzak olup, hava yolları ve parankimde yapay agregat birikiminden uzak maruziyet yöntemleri olan çalışma yoktur. Karbon nanotüpler etkilerini oksidatif stres ve inflamasyon yolu ile de göstermektedirler. Şu ana kadarki çalışmalar granüloma, fibrozise ve mezotelyomaya da yol açabileceğini göstermektedir. Yeni literatürle aksi gösterilene kadar karbon nanotüpler biyopersistan fiberler gibi kabul edilmeli ve aynı kontrol, güvenli kullanım prosedürleri uygulanmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Donaldson K, Aitken R, Tran L, Stone V, Duffin R, Forrest G, et al. Carbon Nanotubes: A Review of Their Properties in Relation to Pulmonary Toxicology and Workplace Safety. *Toxicol Sci* 2006; 92: 5-22.
2. Walters D, Ericson L, Casavant M, Liu J, Colbert D, Smith K, et al. Elastic strain of freely suspended single-wall carbon nanotube ropes. *Appl Phys Lett* 1999; 74: 3803-5.
3. Yu MF, Files BS, Arepalli S, Ruoff RS. Tensile loading of ropes of single wall carbon nanotubes and their mechanical properties. *Phys Rev Lett* 2000; 84: 5552-5.
4. Nikolaev P. Gas-phase production of carbon single-walled nanotubes from carbon monoxide via the HiPco process: A parametric study. *J Vac Sci Technol* 2001; 19: 1800-5.
5. Cientifica (2004). Nanotubes Report 2004. Cientifica.
6. Motta M, Li, Kinloch I, Windle A. Mechanical Properties of Continuously Spun Fibers of Carbon Nanotubes. *Nano Lett* 2005; 5: 1529-33.
7. Liu J, Rinzler AG, Dai H, Hafner JH, Bradley RK, Boul PJ, et al. Fullerene Pipes. *Science* 1998; 280: 1253-6.
8. Jorio A, Saito R, Hafner JH, Lieber CM, Hunter M, McCullure T, et al. Structural (n, m) determination of isolated single-wall carbon nanotubes by resonant Raman scattering. *Phys Rev Lett* 2001; 86: 1118-21.
9. Hou PX, Xu ST, Ying Z, Yang QH, Liu C, Cheng HM. Hydrogen adsorption/desorption behavior of multi-walled carbon nanotubes with different diameters. *Carbon* 2003; 41: 2471-6.
10. Thess A, Lee R, Nikolaev P, Dai H, Petit P, Robert J, et al. Crystalline Ropes of Metallic Carbon Nanotubes. *Science* 1996; 273: 483-7.
11. Peigney A, Laurent C, Flahaut E, Bacsá RR, Rousset A. Specific surface area of carbon nanotubes and bundles of carbon nanotubes. *Carbon* 2001; 39: 507-14.

12. Ye Y, Ahn CC, Witham C, Fultz B, Liu J, Rinzler AG, et al. Hydrogen adsorption and cohesive energy of single-walled carbon nanotubes. *Appl Phys Lett* 1999; 74: 2307-9.
13. Tran CL, Buchanan D, Cullen RT, Searl A, Jones AD, Donaldson K. Inhalation of poorly soluble particles. II. Influence Of particle surface area on inflammation and clearance. *Inhal Toxicol* 2000; 12: 1113-26.
14. Duffin R, Tran CL, Clouter A, Brown DM, MacNee W, Stone V, et al. The Importance of Surface Area and Specific Reactivity in the Acute Pulmonary Inflammatory Response to Particles. *Ann Occup Hyg* 2002; 46(Suppl 1): 242-5.
15. Howard CV. Particulate Aerosols, Incinerators and Health. In: Nicolopoulou-Stamati P, Hens L, Howard CV, editors. *Health Impacts of Waste Management Policies. Environmental Science and Technology Library*. 16: Springer Netherlands; 2000. p. 155-74.
16. Donaldson K, Tran CL. An introduction to the short-term toxicology of respirable industrial fibres. *Mutat Res* 2004; 553: 5-9.
17. Mauderly JL, Snipes MB, Barr EB, Belinsky SA, Bond JA, Brooks AL, et al. Pulmonary toxicity of inhaled diesel exhaust and carbon black in chronically exposed rats. Part I: Neoplastic and nonneoplastic lung lesions. *Res Rep Health Eff Inst* 1994; 68: 1-75; discussion 7-97.
18. Lee KP, Henry NW 3rd, Trochimowicz HJ, Reinhardt CF. Pulmonary response to impaired lung clearance in rats following excessive TiO₂ dust deposition. *Environ Res* 1986; 41: 144-67.
19. Gilmour PS, Ziesenis A, Morrison ER, Vickers MA, Drost EM, Ford I, et al. Pulmonary and systemic effects of short-term inhalation exposure to ultrafine carbon black particles. *Toxicol Appl Pharmacol* 2004; 195: 35-44.
20. Borm PJ, Kreyling W. Toxicological hazards of inhaled nanoparticles—potential implications for drug delivery. *J Nanosci Nanotechnol* 2004; 4: 521-31.
21. Bernstein D, Castranova V, Donaldson K, Fubini B, Hadley J, Hesterberg T, et al. Testing of fibrous particles: short-term assays and strategies. *Inhal Toxicol* 2005; 17: 497-537.
22. Davis JM, Brown DM, Cullen RT, Donaldson K, Jones A, Miller BG, et al. A comparison of methods for determining and predicting the pathogenicity of mineral fibres. *Inhal Toxicol* 1996; 8: 747-70.
23. Coin PG, Roggli VL, Brody AR. Persistence of long, thin chrysotile asbestos fibers in the lungs of rats. *Environ Health Perspect* 1994; 102(Suppl 5): 197-9.
24. Searl A, Buchanan D, Cullen RT, Jones AD, Miller BG, Soutar CA. Biopersistence and durability of nine mineral fibre types in rat lungs over 12 months. *Annals of Occupational Hygiene* 1999; 43: 143-53.
25. McDonald JC. Mineral fibre persistence and carcinogenicity. *Ind Health* 1998; 36: 372-5.
26. Kamstrup O, Davis JM, Ellehaug A, Guldberg M. The biopersistence and pathogenicity of man-made vitreous fibres after short- and long-term inhalation. *Ann Occup Hyg* 1998; 42: 191-9.
27. Roggli VL, and Coin, PG. Mineralogy of asbestos. In: V. L. Roggli TDO, and T. A. Sporn, editor. *Pathology of Asbestos-related Diseases*. 2nd ed. New York: Springer; 2003. p. 1-16.
28. Bernstein DM, Chevalier J, Smith P. Comparison of *Calidria chrysotile* asbestos to pure tremolite: inhalation biopersistence and histopathology following short-term exposure. *Inhal Toxicol* 2003; 15: 1387-419.
29. Takagi A, Hirose A, Nishimura T, Fukumori N, Ogata A, Ohashi N, et al. Induction of mesothelioma in p53[±]-mouse by intraperitoneal application of multi-wall carbon nanotube. *J Toxicol Sci* 2008; 33: 105-16.
30. Sakamoto Y, Nakae D, Fukumori N, Tayama K, Maekawa A, Imai K, et al. Induction of mesothelioma by a single intrascrotal administration of multi-wall carbon nanotube in intact male Fischer 344 rats. *J Toxicol Sci* 2009; 34: 65-76.
31. Poland CA, Duffin R, Kinloch I, Maynard A, Wallace WA, Seaton A, et al. Carbon nanotubes introduced into the abdominal cavity of mice show asbestos-like pathogenicity in a pilot study. *Nat Nanotechnol* 2008; 3: 423-8.
32. Takagi A, Hirose A, Futakuchi M, Tsuda H, Kanno J. Dose-dependent mesothelioma induction by intraperitoneal administration of multi-wall carbon nanotubes in p53 heterozygous mice. *Cancer Sci* 2012; 103: 1440-4.
33. Lam C-W, James JT, McCluskey R, Hunter RL. Pulmonary Toxicity of Single-Wall Carbon Nanotubes in Mice 7 and 90 Days After Intratracheal Instillation. *Toxicol Sci* 2004; 77: 126-34.
34. Ghio AJ, Stonehuerner J, Dailey LA, Carter JD. Metals associated with both the water-soluble and insoluble fractions of an ambient air pollution particle catalyze an oxidative stress. *Inhal Toxicol* 1999; 11: 37-49.
35. Nemmar A, Hoet PHM, Vanquickenborne B, Dinsdale D, Thomeer M, Hoylaerts ME, et al. Passage of Inhaled Particles Into the Blood Circulation in Humans. *Circulation* 2002; 105: 411-4.
36. Oberdorster G, Sharp Z, Atudorei V, Elder A, Gelein R, Kreyling W, et al. Translocation of inhaled ultrafine particles to the brain. *Inhal Toxicol* 2004; 16: 437-45.