

# Effekt von Carbon Black Nanopartikeln (CBNP) auf gesunde und vorgeschädigte Lungenzellen und PCLS

Olga Danov, Jan Knebel, Otto Creutzenberg, Armin Braun, Katherina Sewald\* und Tanja Hansen\*  
 Fraunhofer Institut für Toxikologie und Experimentelle Medizin, Nikolai-Fuchs-Str. 1, 30625 Hannover

\* Geteilte Autorenschaft

## Hintergrund und Konzept

### Hintergrund:

Im Verbundvorhaben NanoCOLT soll das toxische Potential von Carbon Black Nanopartikeln (CBNP) nach inhalativer Langzeitexposition untersucht werden. Die Effekte von CBNP sollen dabei nicht nur auf gesunde sondern auch auf vorgeschädigte Lungen überprüft werden.

Das Projekt hat zum Ziel, biologische Zusammenhänge zwischen den chemischen Oberflächeneigenschaften industriell hergestellter CBNP und deren toxischer Wirkung auf humane Lungenepithelzellen in Air Liquid Interface (ALI) Kultur und Precision Cut Lung Slices (PCLS) aufzuklären.

### Ziele

Versorgung aller Verbundpartner mit stabilen, sterilen CBNP-Suspensionen und die Erstellung von SOPs für die Herstellung der Suspensionen.

Entwicklung eines Testsystems zur Exposition von Zellen gegenüber CBNP an der Luft-Flüssigkeitsgrenze auf der Basis der P.R.I.T. ALI Technologie.

Entwicklung eines Testprotokolls für humane PCLS zur Untersuchung des Einflusses respiratorischer Vorerkrankungen auf die CBNP-Wirkung.

Durchführung einer OECD 413 Inhalationsstudie an der Ratte und Vergleich der Ergebnisse mit den *in vitro* / *ex vivo* gewonnenen Daten.

## Methoden

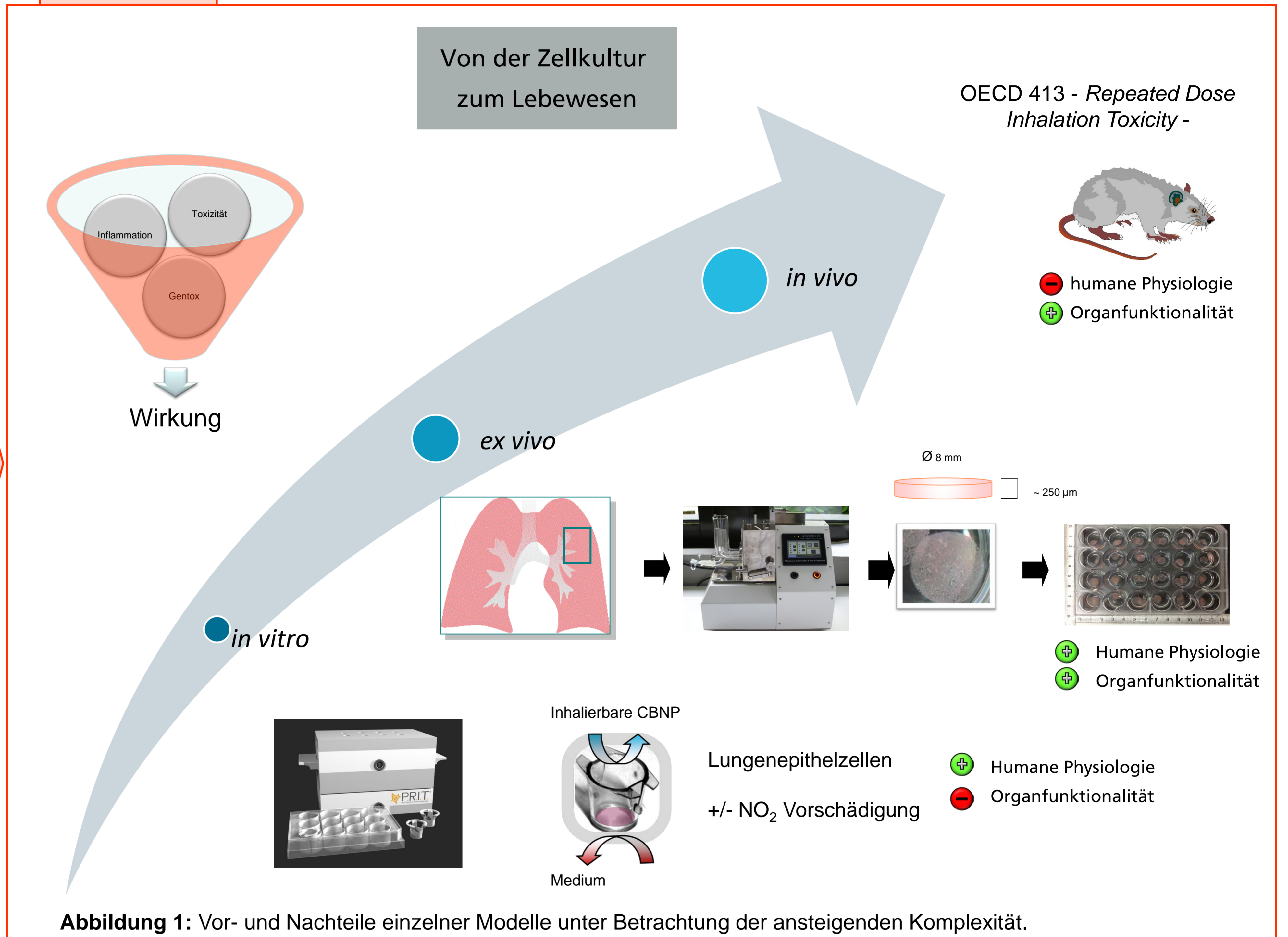


Abbildung 1: Vor- und Nachteile einzelner Modelle unter Betrachtung der ansteigenden Komplexität.

## Ergebnisse

### In vitro Testung von CBNP

Die Lungenepithelzellen (A549) wurden unter Verwendung der am Fraunhofer ITEM entwickelten P.R.I.T.® ALI-Technologie einmal oder wiederholt gegenüber Printex®90 Aerosolen (1.7 to 39.8 µg/cm<sup>2</sup>) exponiert. Die wiederholte Exposition führte zu keinem zytotoxischen Effekt.

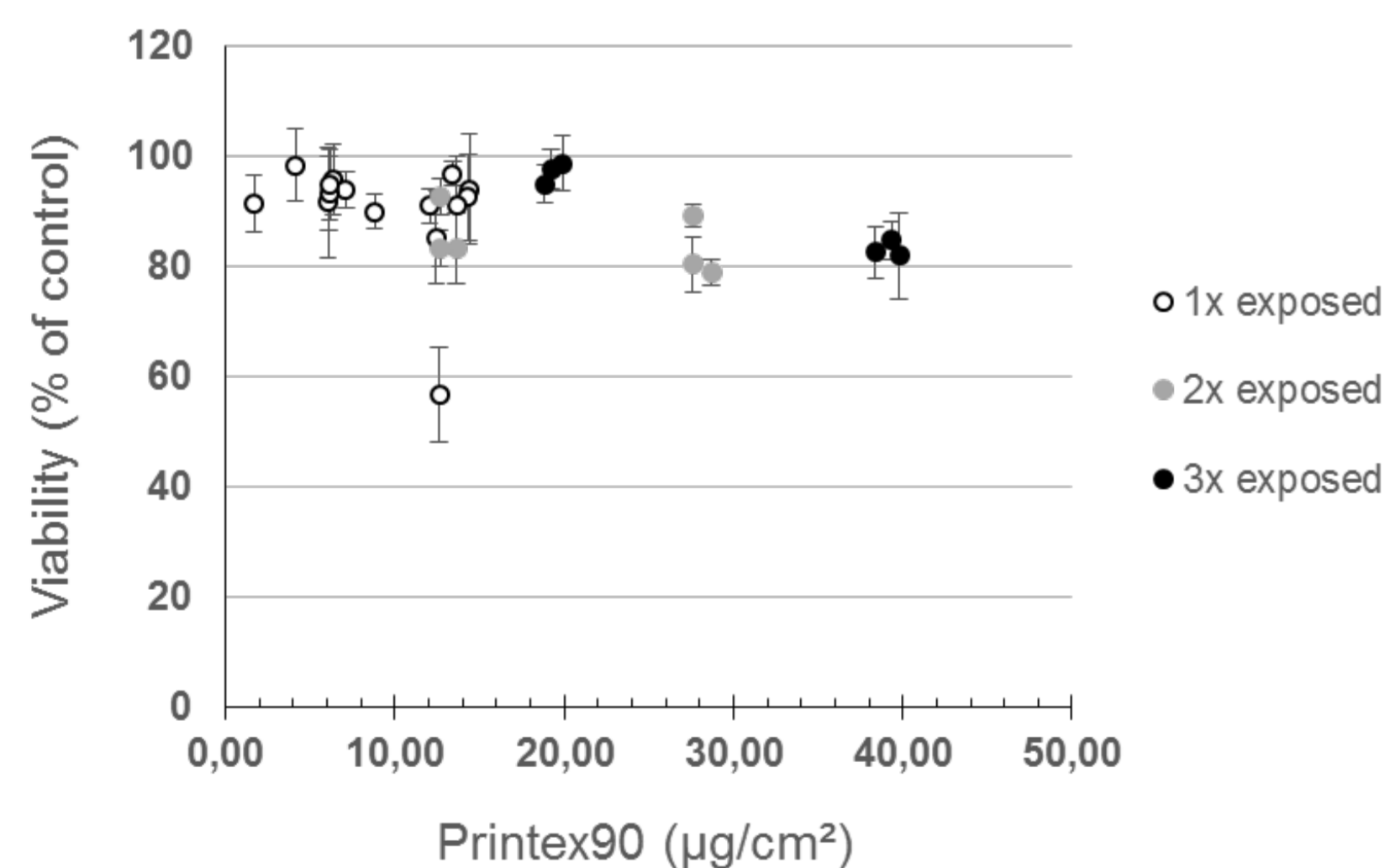


Abbildung 2: Exposition der A549 mit P90 Nanopartikeln.

CBNP Exposition des gesunden Lungengewebes führt zu keinem zytotoxischen Effekt nach 24 h.

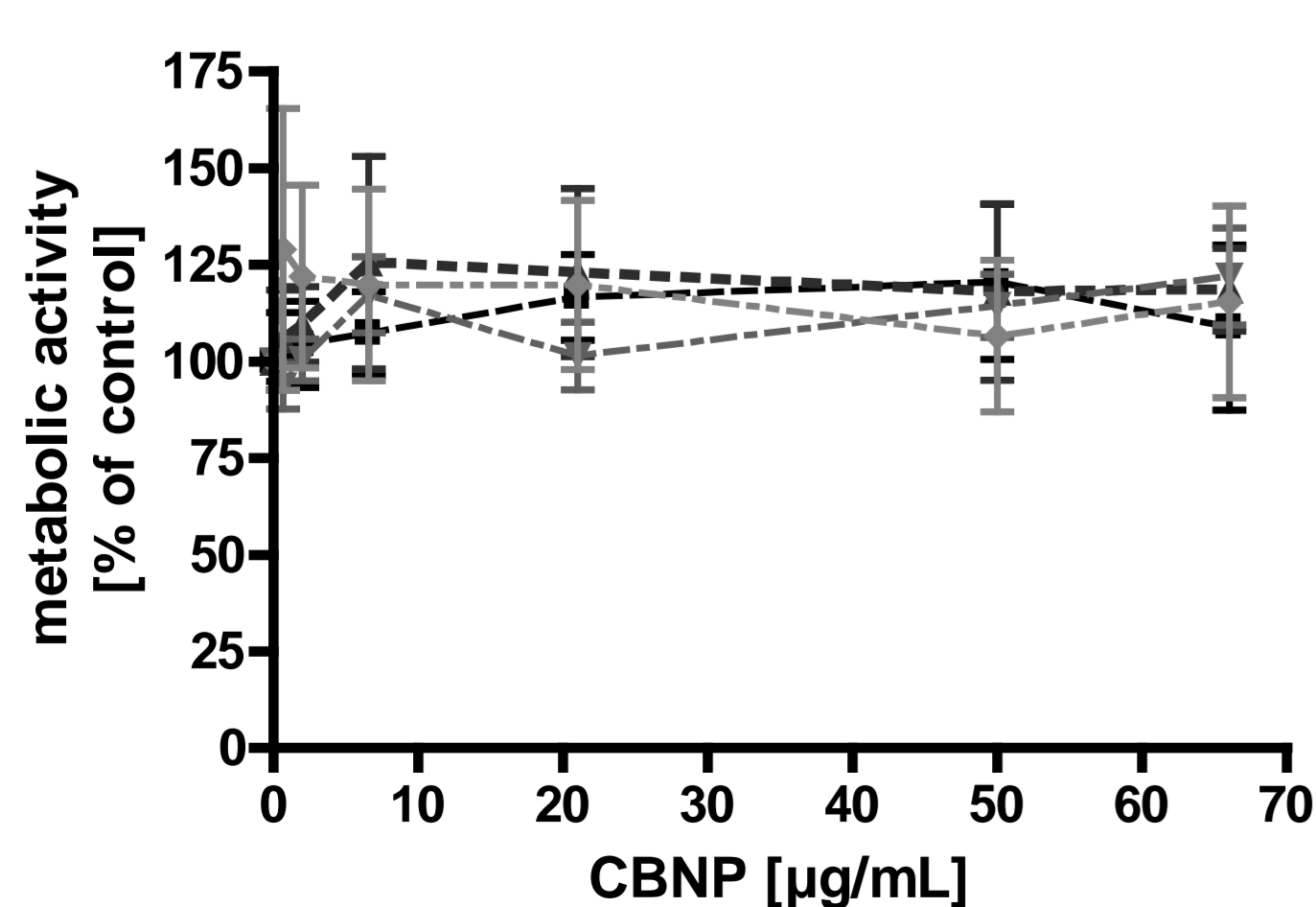
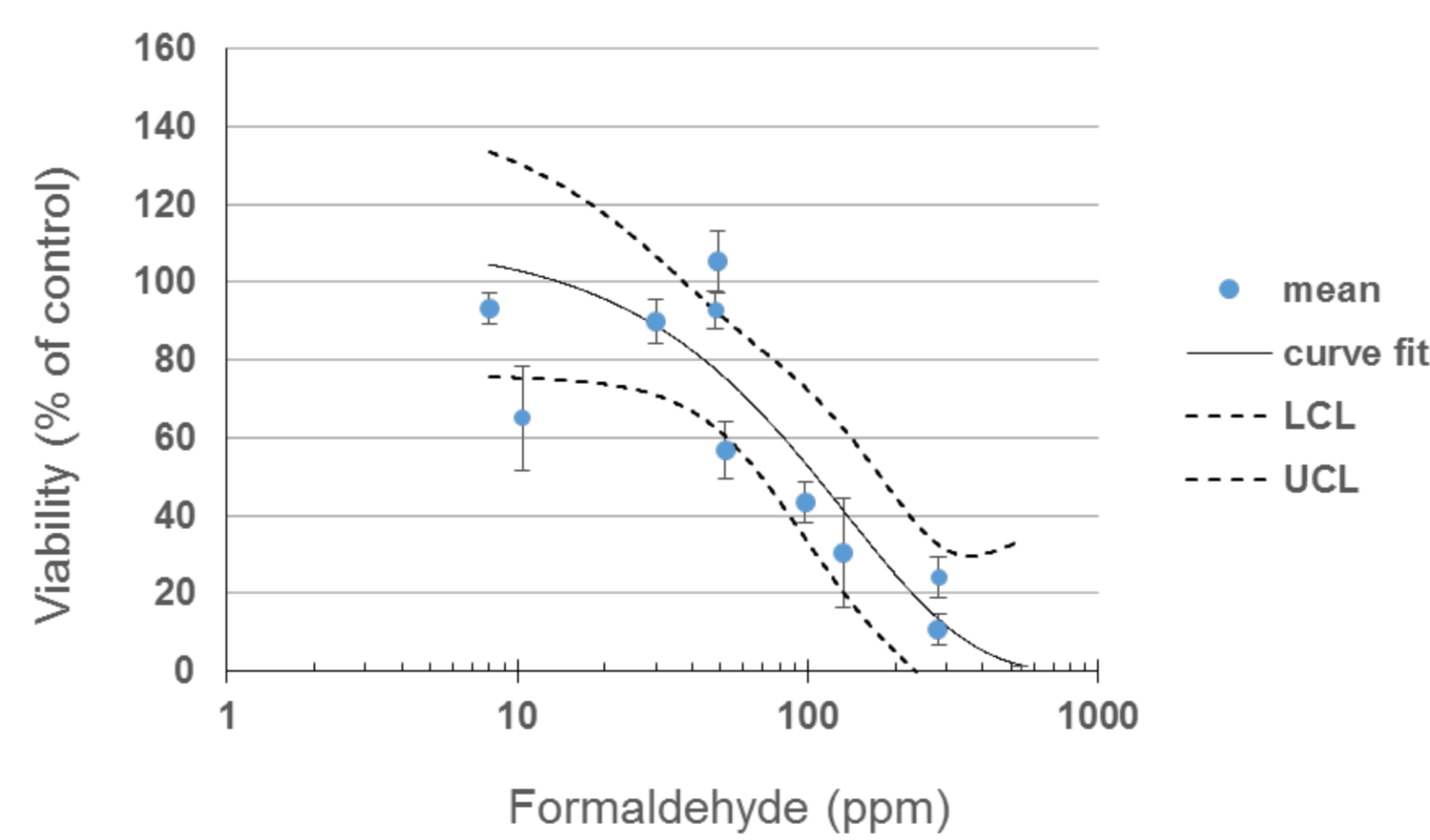


Abbildung 3: Ex vivo Exposition mit CBNP von gesundem Lungengewebe.

### Vorschädigung des Lungenepithels

Um eine Vorschädigung des Lungenepithels durch luftgetragene Schadstoffe zu simulieren, wurden die Epithelzellen im nächsten Schritt mit Formaldehyd vorbehandelt. Es konnte eine Dosis/Wirkungskurve im Bereich von 8 ppm bis 280ppm erhalten werden mit einem EC<sub>50</sub> Wert bei 107ppm Formaldehyd.



Eine anschließende Ko-Exposition der Zellen gegenüber Printex®90 führte zu einem additiven Effekt und einer deutlichen, zelltoxischen Wirkung. Diese fiel stärker aus, als bei alleiniger Exposition mit Formaldehyd (EC<sub>50</sub> Wert für Formaldehyd (21 ppm)).

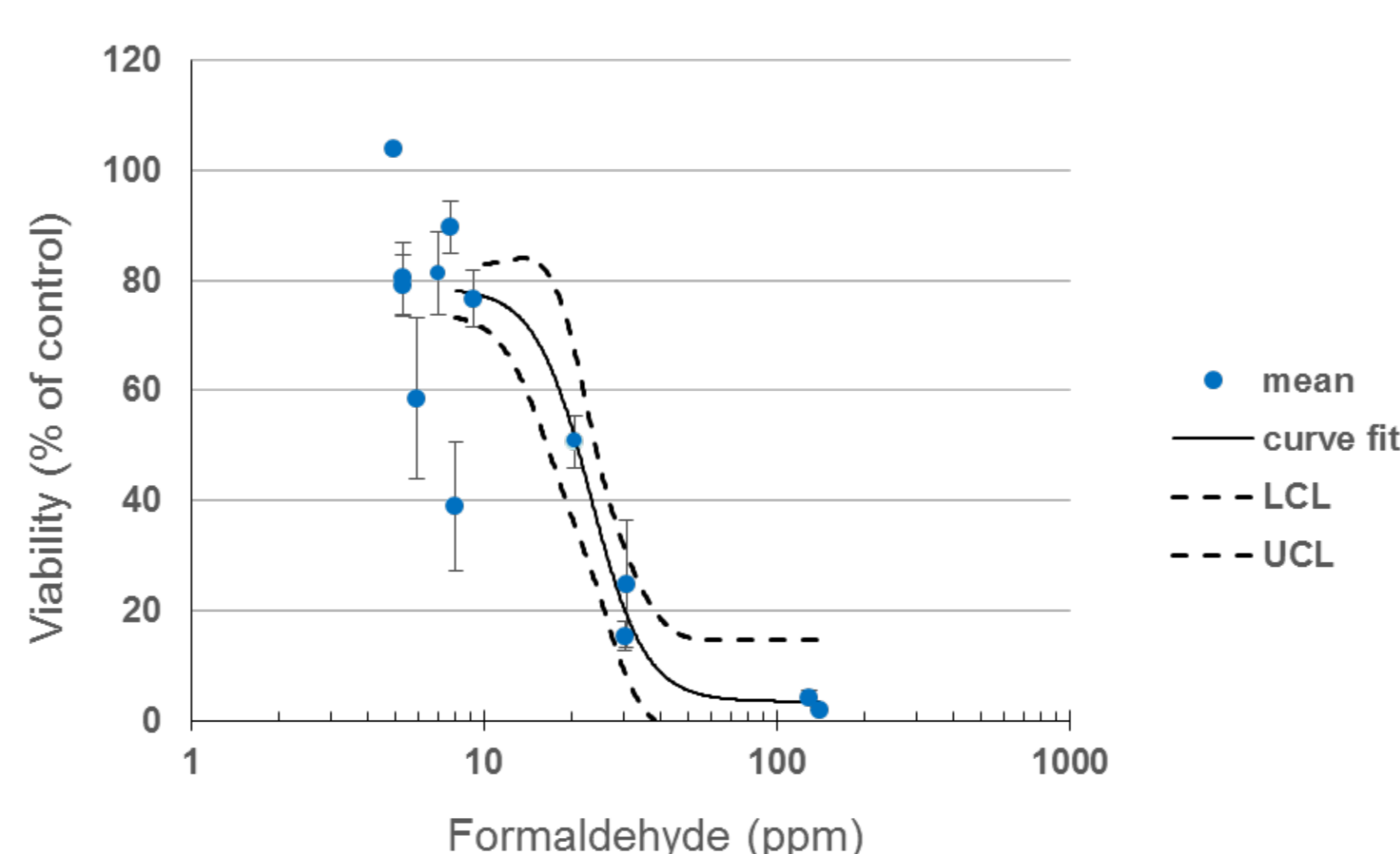


Abbildung 4: Ko-Exposition gegenüber Formaldehyd und Printex90 führte zu einem deutlich reduzierten EC<sub>50</sub> Wert für Formaldehyd (21 ppm).

### Vorerkranktes Lungengewebe

CBNP Exposition des vorerkrankten Lungengewebes (Emphysemen, Fibrose und zystische Fibrose) führte zu keinem zytotoxischen Effekt nach 24 stündigen Exposition.

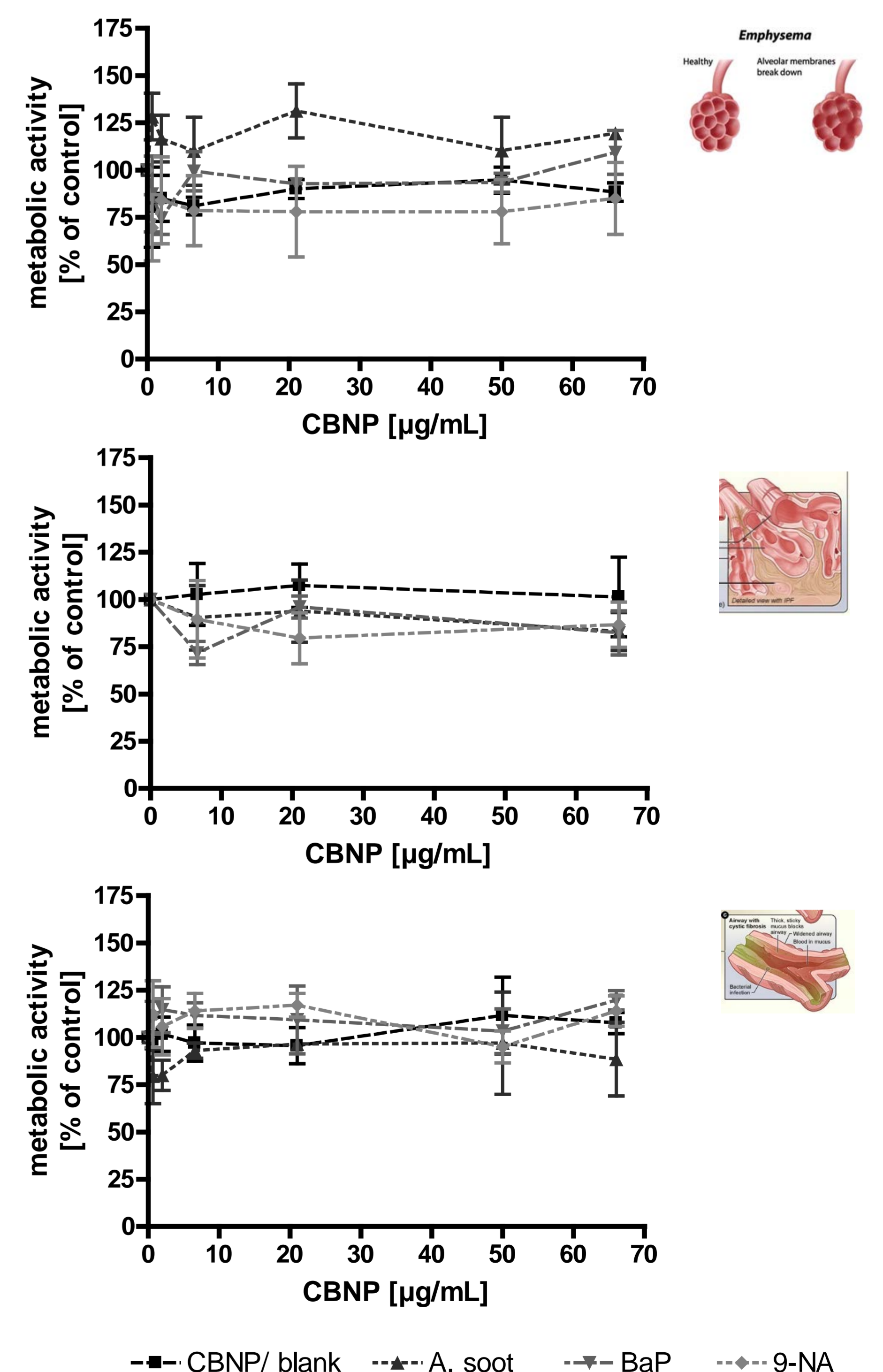


Abbildung 5: Die Zytotoxizität wurde mit dem WST-1 Test bestimmt und die Ergebnisse auf die unbehandelte Kontrolle normiert. Kein zytotoxischer Effekt durch CBNP in vorerkranktem Lungengewebe.