NanoLunCh

Entwicklung eines Lung-on-a-Chip-Systems zur in-vitro-Analyse der Toxizität von Nanostäuben

Programm / Ausschreibung	NANO-EHS, FTEI-Projekte 2018	**Status**	abgeschlossen
Projektstart	01.10.2019	**Projektende**	31.01.2021
Zeitraum	2019 - 2021	**Projektlaufzeit**	16 Monate
Keywords	Feinstaub, Toxikologie, Inhalation, Risikoabschätzung, in vitro Systeme		

Projektbeschreibung

Faktoren, die eine Risikoeinstufung von Nanostäuben sowohl in der Sicherheitstech-nik als auch im Bereich toxikologischer Untersuchungen erschweren, sind vor allem ihre hohe Oberflächenaktivität. Diese wird durch Probenentnahme, Lagerung, Transport und Probenaufbereitung stark beeinflusst. Veränderungen finden auch durch den Kontakt mit biologischen Flüssigkeiten statt. Wegen der reaktiven Ober-fläche ist die Charakterisierung von Stäuben rein über ihre Größe nicht ausreichend, da man weiß, dass das oxidative Potential eine große Rolle für die biologische Wir-kung hat. Eine Einschränkung der biologischen Testung ist ebenfalls, dass die kon-ventionelle Zytotoxizitätstestung mit Partikelsuspensionen, welche auf submers kul-tivierte respiratorische Zellen aufgebracht werden, arbeitet. Dies entspricht nicht den realen Bedingungen, denn die Lungenoberfläche ist nur von einem dünnen Flüs-sigkeitsfilm überdeckt. Das Aufbringen von Partikeln als Aerosol stellt das Problem, dass der Nanostaub irreversibel an Bestandteile des Expositionssystems binden kann. Auch die Exposition von nur einem Zelltyp ist unphysiologisch, da in den für die Absorption von Nanopartikeln wichtigsten Bereichen der Lunge, den Alveolen, neben Epithelzellen auch Makrophagen vorliegen. Ein weiteres Problem ist die schwere Erfassung von Langzeitfolgen, da zelluläre Versuche eine Auswertedauer von maximal 8 Tagen zulassen.
Im geplanten Projekt wird eine neuartige Methode der Probengewinnung, die Sammlung in simulierter Lungenflüssigkeit, verwendet, um die Probleme von Ad-sorption an Sammel- und Expositionseinrichtungen zu minimieren. Da die Partikel mit dieser Flüssigkeit nach der Deposition der Partikel in der Lunge Kontakt haben, sind die eintretenden Veränderungen physiologisch relevant. Die gesammelten Pro-ben werden nicht nur auf Größe und Anzahl in Luft und in Flüssigkeit, sondern auch auf ihr oxidatives Potential untersucht. In der biologischen Testung wird das Problem der Monokultivierung durch Etablierung von Alveolarzell/Makrophagen Co-kultivierung angegangen. Besonders wird eine neue Technologie, die Herstellung von „Organen am Chip“ genutzt, welche zuverlässige, robuste und reproduzierbare in-vitro-Analysen unter physiologischen Messbedingungen ermöglicht, um den Prototyp einer Lunge am Chip herzustellen. Die biologischen Untersuchungen beinhalten weiterhin die Beurteilung der wiederholten Exposition zu Nanostäuben in zellulären Untersuchungen über 4 Wochen. Das Projekt liefert eine umfassende Charakterisie-rung von Nanostäuben und deren biologischer Wirkung zur Identifikation von für die Toxizität verantwortlichen Variablen. Insbesondere findet im Projekt die Realisierung einer Lunge am Chip statt, die einer absoluten Spitzentechnologie darstellt.

Abstract

Human risk by exposure to nanoparticles is highly influenced by their high surface reactivity. Collection of samples, storage, transport, further treatment of the samples and also contact with biological fluids has a great influence on their reactivity and agglomeration of the particles occurs frequently. Due to the high surface reactivity particle characterization only by particle size is not sufficient because it is known that generation of reactive oxygen species plays an important role in the biological effects of the particles. A limitation of the biological assessment in vitro is the fact that conventional cytotoxicity testing applies particles as suspensions on submersed cultivated respiratory cells. This does not reflect the situation in the deep lung, where the surface of respiratory cells is covered only by a thin layer of epithelial lining fluid. Application of aerosol to mimic the physiological exposure poses the problem that nanoparticles may adsorb to parts of the exposure system. Further-more, assessment of toxic effects on only one cell type does not reflect the physio-logical situation in the alveoles. These areas of the lung are the most sensitive parts for cell damage and transmigration of particles and consist not only of alveolar epi-thelial cells but also of alveolar macrophages. Lastly, the estimation of effects of long-term exposure is difficult as cellular studies are usually limited to evaluation for 8 days.
In the proposed study an innovative method for the collection of nanoparticles will be used. It consists of particle collection in simulated lung fluid and avoids adsorption of the particles to collection vials and walls of the cell exposure system. Since particles after deposition in the lung get into contact with this fluid, changes occur-ring upon contact with this medium are physiologically relevant. The particle-containing fluids will be characterized not only according to particle size and zeta-potential but also for the potential to generate oxygen species. Changes in particle characteristics in aerosol and in fluid will be recorded. Biological assessment will be performed in monoculture of alveolar cells and in co-cultures of alveolar epithelial cells and human macrophages. Organs on a chip represent an innovative method to perform robust and reproducible in vitro analyses under physiological conditions. This technology will be used to produce a lung on a chip. The biological evaluation includes further an assessment of repeated exposure over 4 weeks.
The project provides a comprehensive characterization of particles regarding physi-cochemical parameters and oxidative potential to link specific particle parameters to biological effects. It further delivers a prototype of a lung on a chip, a cutting edge technology tool.

Projektkoordinator

- Medizinische Universität Graz Zentrum für Medizinische Forschung

Projektpartner

- Technische Universität Wien Institut für Angewandte Synthesechemie
- Technische Universität Wien Institut für Chemische Technologien und Analytik