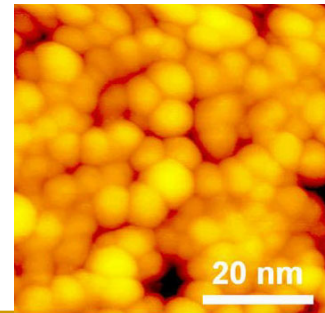




# Nanotoxikologie & Equinano Testung



Medizinische Universität Graz  
Zentrum für Medizinische  
Grundlagenforschung (ZMF)  
Prof. Dr. Eleonore Fröhlich





- Kopierer/Drucker
- Beschichtungen/Klebstoffe/Lacke
- Autoreifen
- Kosmetik
- Sonnenschutz
- Nahrungsmittelzusätze
- Medizinprodukte (z.B. Medikamente, Kontrastmittel, regenerative Medizin)



- Kosmetik, Sonnenschutz –  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{ZnO}$ ,  $\text{CeO}_2$
- Nahrungsmittelzusätze –  $\text{SiO}_2$  (Ketchup)
- Brillen – anorganisch/organische Hybridpolymere
- Gewebe – organische Polymere
- Katalysatoren – Metalle und Metallhybride



<b>Applikation</b>	<b>Produkt</b>
Appetitzügler	Megace ® ES
Zytostatika	Abraxane™, Doxil ®, Emend ®
Cholesterinsenkung	TriCor ®
Hormonersatz	Estrasorb™
Immunsuppressiva	Rapamune ®

Vorteile	Nachteile
NP können Substanzen an Wirkungsorte bringen	NP können Zellbarrieren überwinden
NP schützen pharmakologische Wirkstoffe vor Abbau	Sie haben eine große Oberfläche und sind daher besonders reaktiv
NP verstärken die Wirkung von Therapien	Nanopartikel aggregieren gerne

# Feinstaub



Medizinische Universität Graz



Inhalation  $> 10\mu\text{g}/\text{m}^3$   $\text{PM}_{10}$

## ■ Mortalität

- ❑ Insgesamt: + 300%
- ❑ Kardiovaskuläre Todesfälle: + 120%

## ■ Hospitalisierungen:

- ❑ COPD: + 250%
- ❑ Pneumonien: + 150%
- ❑ Asthma: + 170%
- ❑ Kardiovaskuläre Probleme: + 80%

Zusammenfassung aus >100 verschiedenen Studien



- Zellschädigung:
  - Mechanische Schädigung der Zellmembran
  - Induktion des programmierten Zelltodes (Apoptose)
  
- Beeinflussung des Immunsystems:
  - Bindung von Proteinen → Immunantwort
  - Aktivierung von Makrophagen → Entzündung

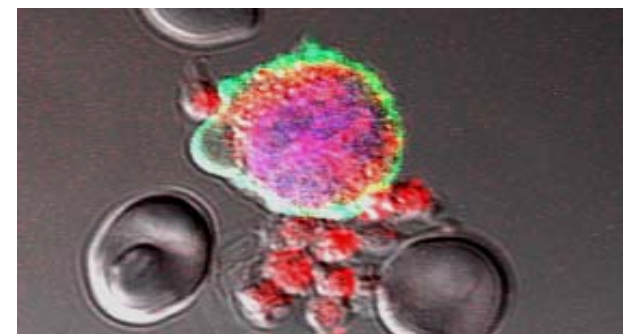
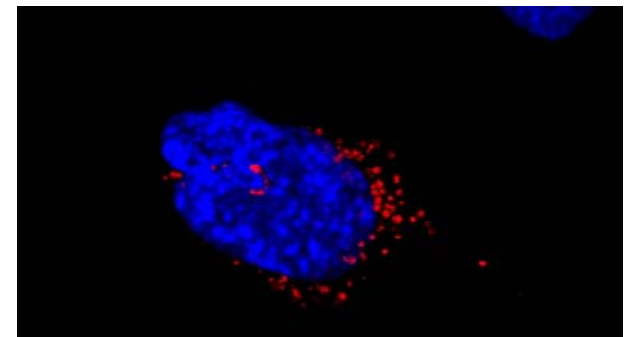
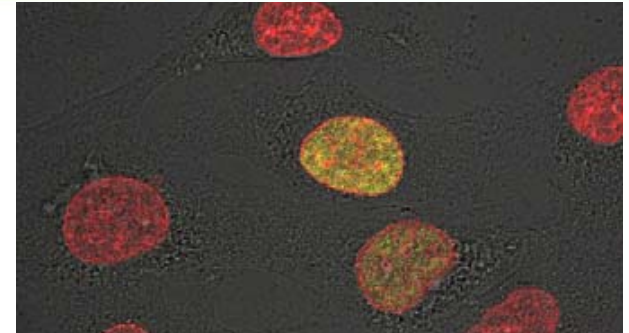


## Gewebezellen

- Vitalität, Zellfunktionen
- Organellenschädigung
- Chronische Effekte

## Blut

- Erythrozytenintegrität
- Gerinnung
- Funktion der Immunzellen



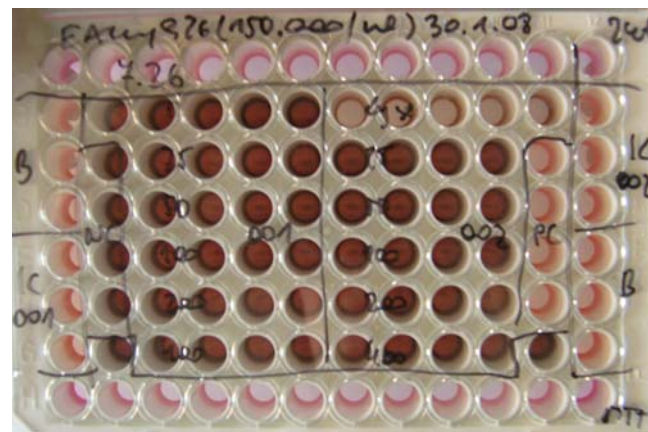
## Toxikologische Parameter

- Effekte auf Zellteilung
- Zellschädigung
- Erythrozytenschädigung
- Unspezifische Aktivierung des Immunsystems

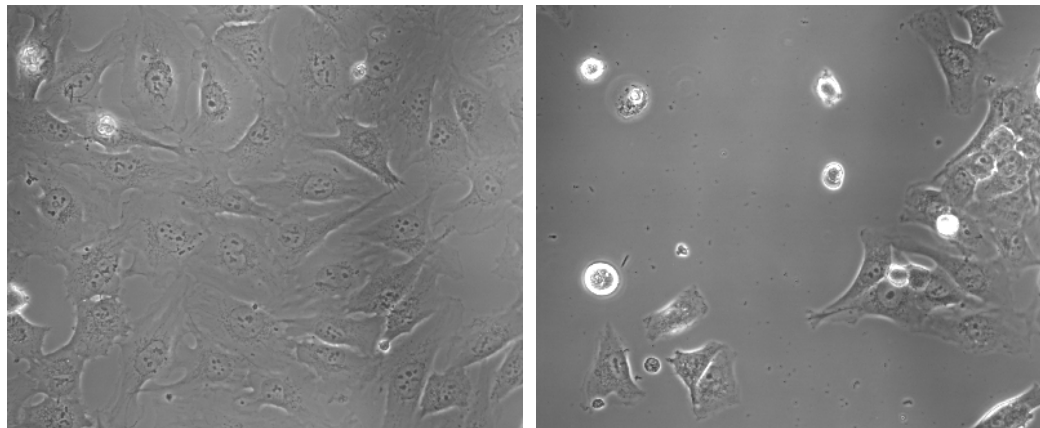
## Testung

- ‚Equinano Mineralkomplex‘
- Nanopartikel suspendiert in Wasser
- Testbereich: empf. Maximaldosis wird zu 100% aufgenommen und im Plasma verteilt

- Zellen besitzen bestimmte Enzyme
- Die Aktivität dieser Enzyme wird quantifiziert
- Ein **Abfall** der Gesamtaktivität lässt auf eine Beeinträchtigung der Zellen schließen



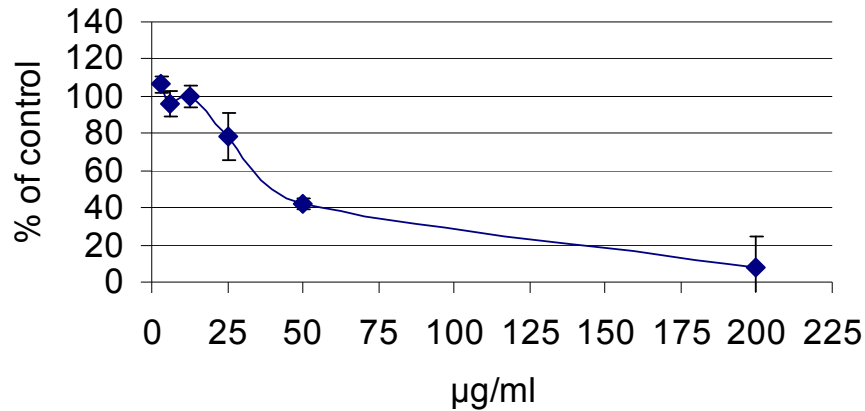
- Anzüchten der Zellen
- Behandlung mit Testsubstanz 4h und 24h
- Mikroskopische Beurteilung der Zellen
- Bestimmung der Zellzahl (oder Zelleistung)



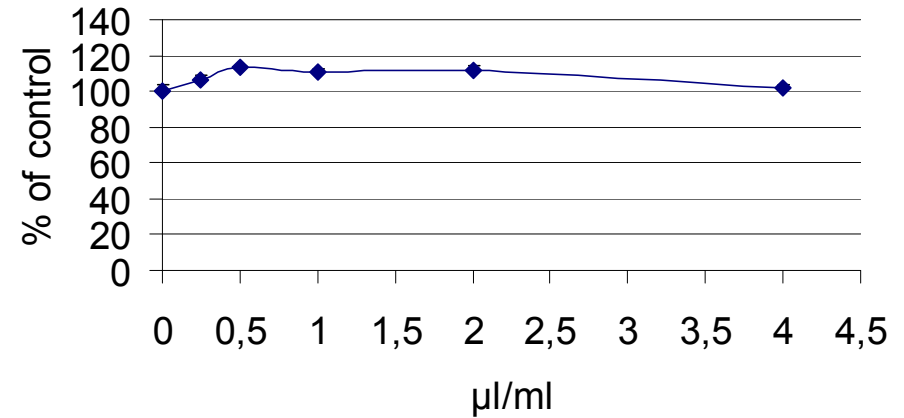
# Zelluläre Schädigung



EAhy926 mit 20 nm Carboxyl  
Polystyrolpartikeln



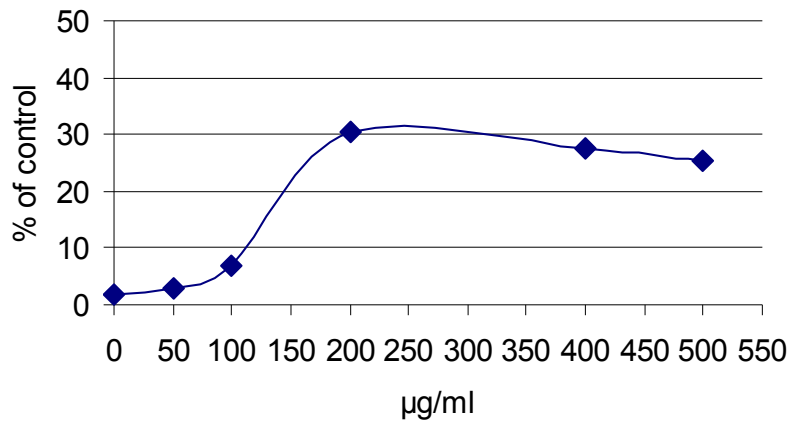
Eahy926 treated for 24 h with  
Equinano



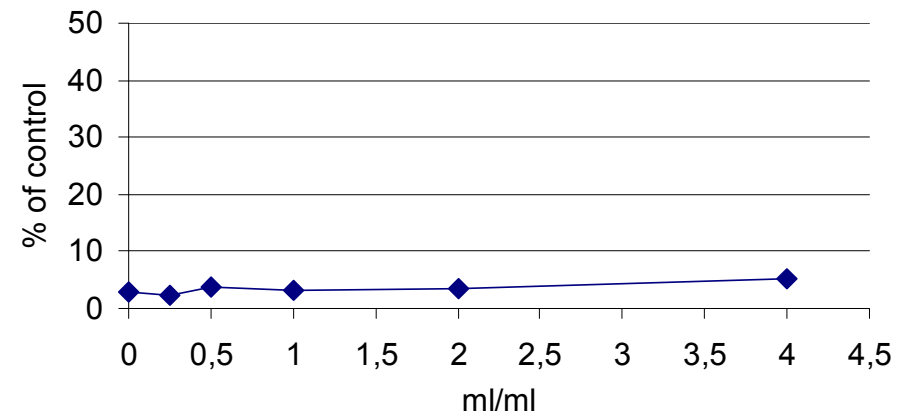


- Zellen besitzen in ihrem Zellinneren Enzyme
- Durch Schädigung der Zellmembran können sie aus der Zelle heraus in den Überstand gelangen
- Die Aktivität dieser Enzyme im Überstand wird quantifiziert
- Ein **Anstieg** der Gesamtaktivität lässt auf eine Schädigung schließen

EAhy926 treated with Carboxyl polystyrene particles



EAhy 926 treated for 24h with Equinano

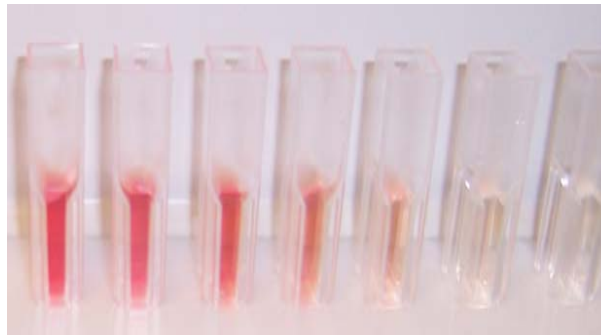


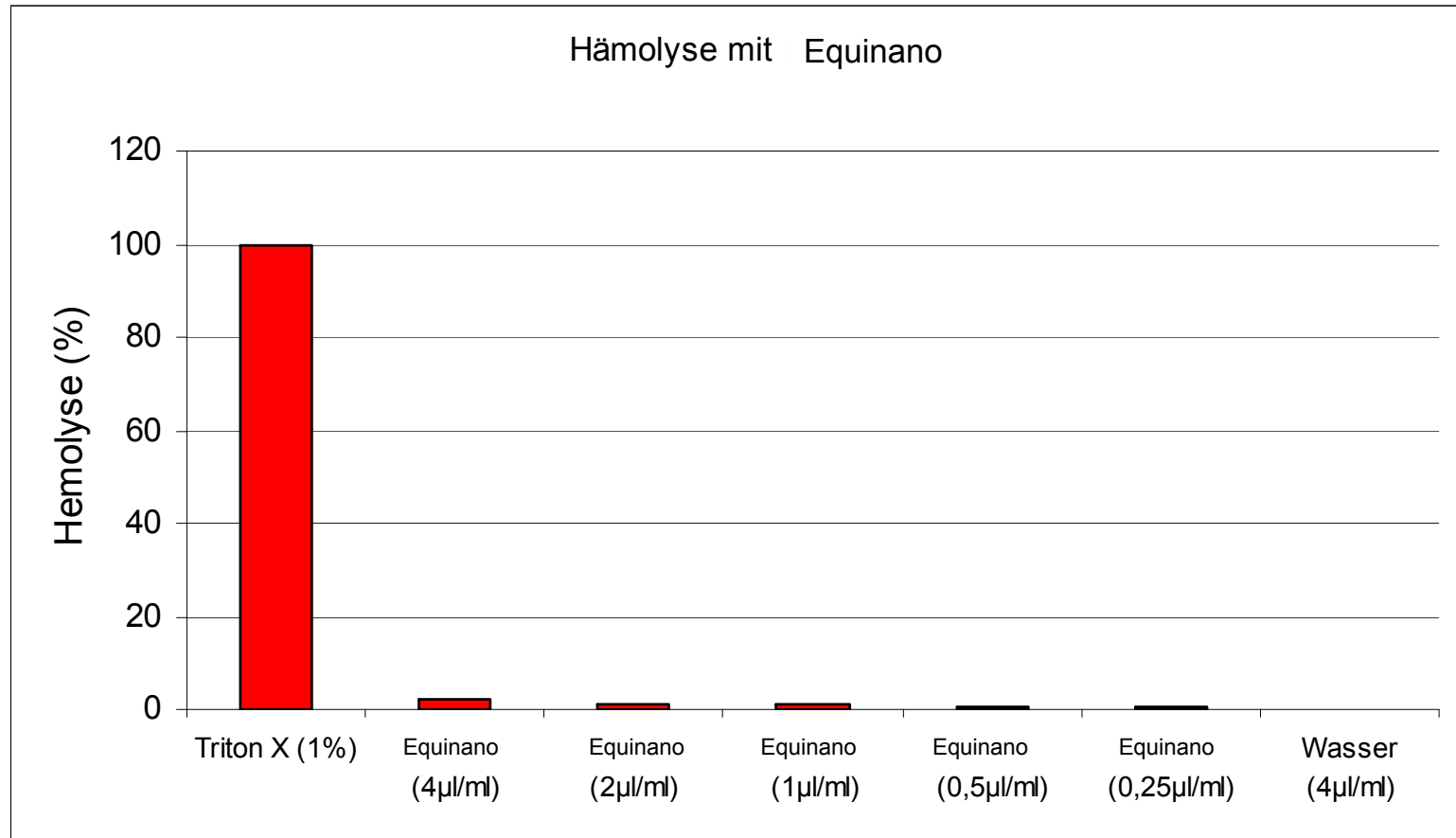


- Erythrozyten enthalten den roten Blutfarbstoff Hämoglobin
- Durch Schädigung der Membranen tritt Hämoglobin aus
- Ein **Anstieg** der Färbung im Überstand lässt auf eine Schädigung schließen



- Isolieren der Erythrozyten (Blutbank)
- Behandlung mit Testsubstanz
- Bestimmung der Hämoglobinkonzentration im Überstand

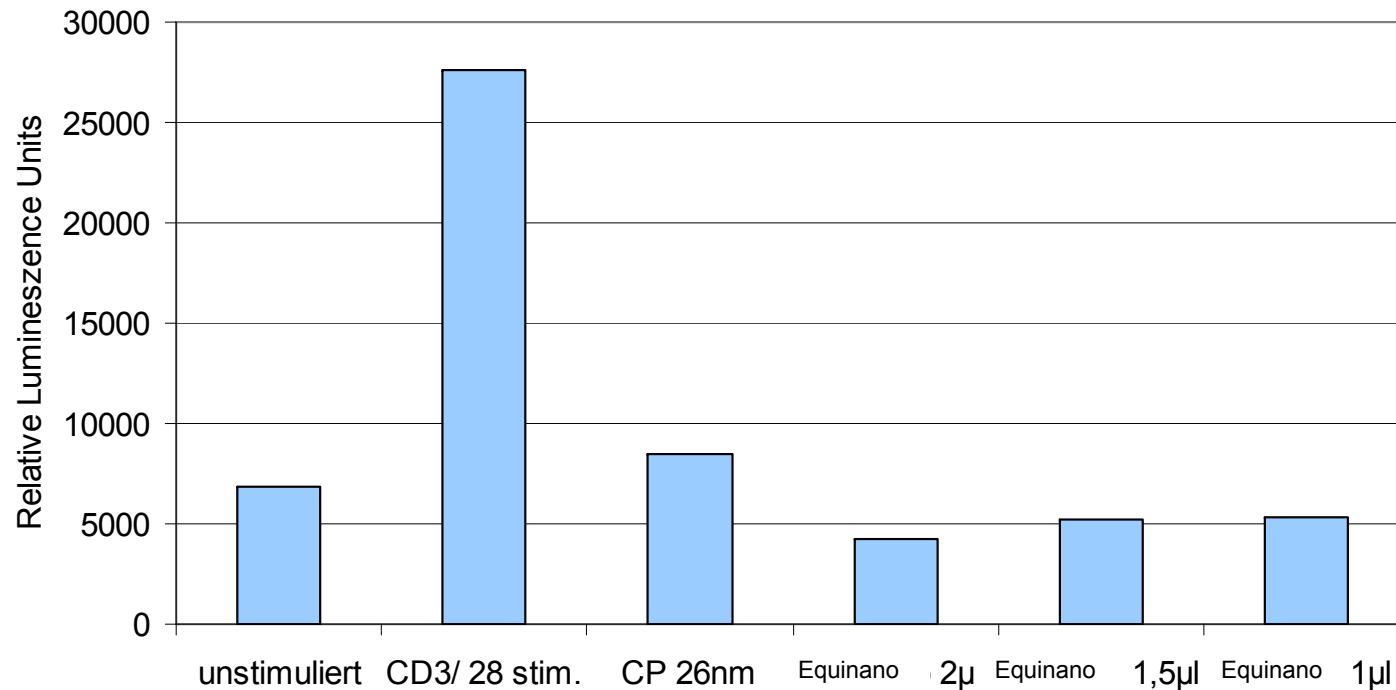






- T-Lymphozyten gehören zur zellulären Abwehr des erlernten Immunsystem
- Sie vermehren sich, wenn sie mit einem als ‚fremd‘ erkannten Signal in Kontakt kommen, um dieses besser bekämpfen zu können
- Eine **erhöhte** Zellzahl weist auf eine Stimulation der zellulären Abwehr hin

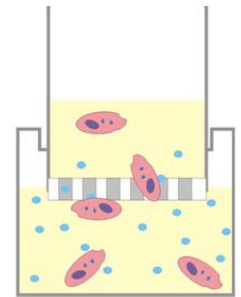
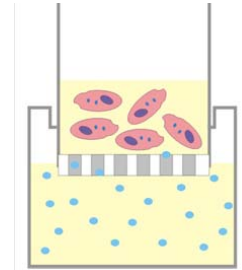
Lymphozytenstimulation mit Equinano



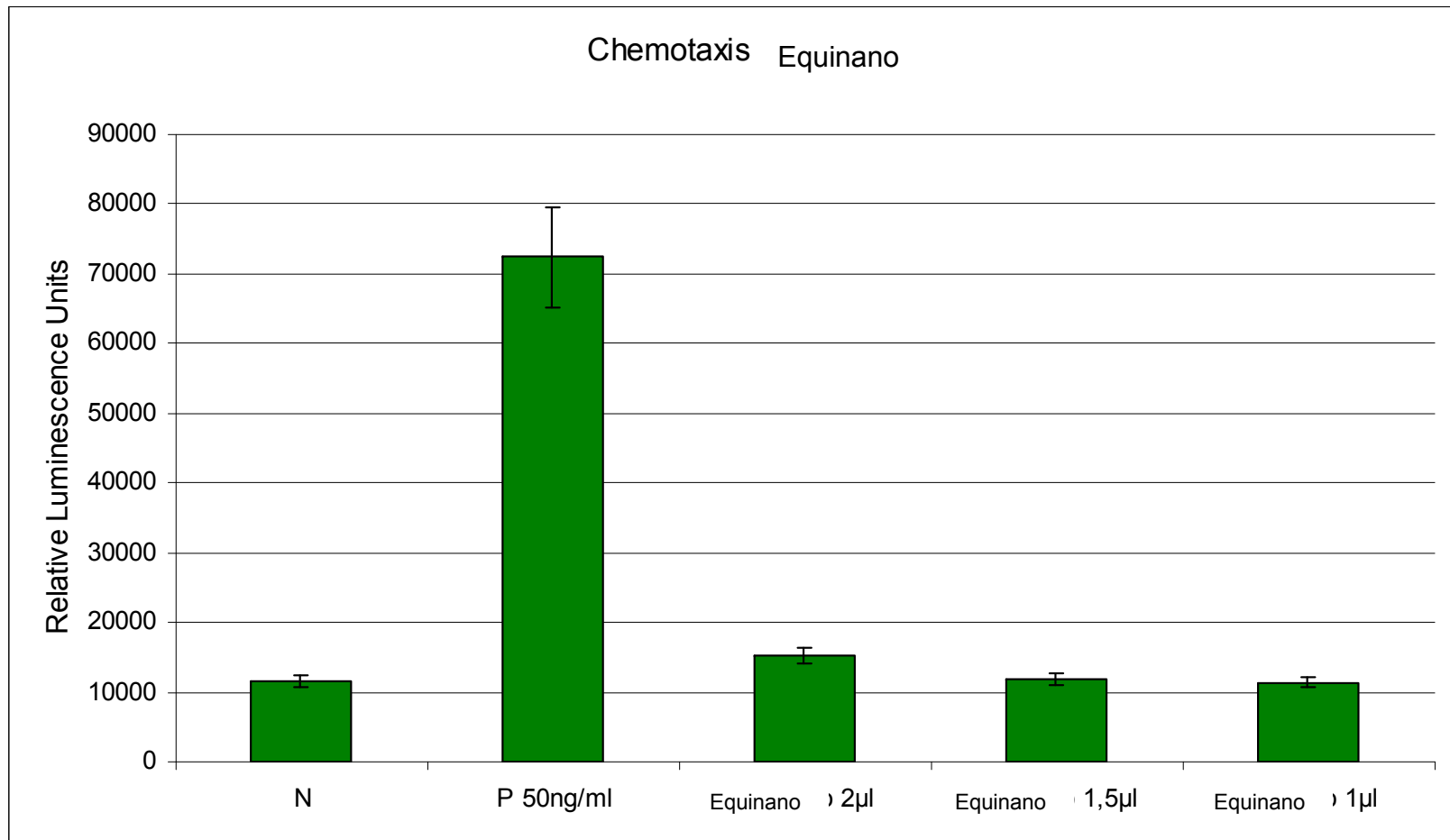


- Makrophagen gehören zum angeborenen Immunsystem
- Sie wandern auf einen Reiz hin und locken dann andere Immunzellen an, um eine Entzündungsreaktion einzuleiten
- Eine **vermehrte** Wanderung auf die Testsubstanz weist auf eine Stimulation der unspezifischen Immunabwehr hin

- Zugabe der Zellen im oberen Teil des durch einen Filter getrennten Kulturgefäßes
- Zugabe der Testsubstanz in den unteren Teil
- Inkubation - Zellen wandern
- Bestimmung der Zellzahl (oder Zelleistung) in der unteren Kammer



# Makrophagenaktivierung

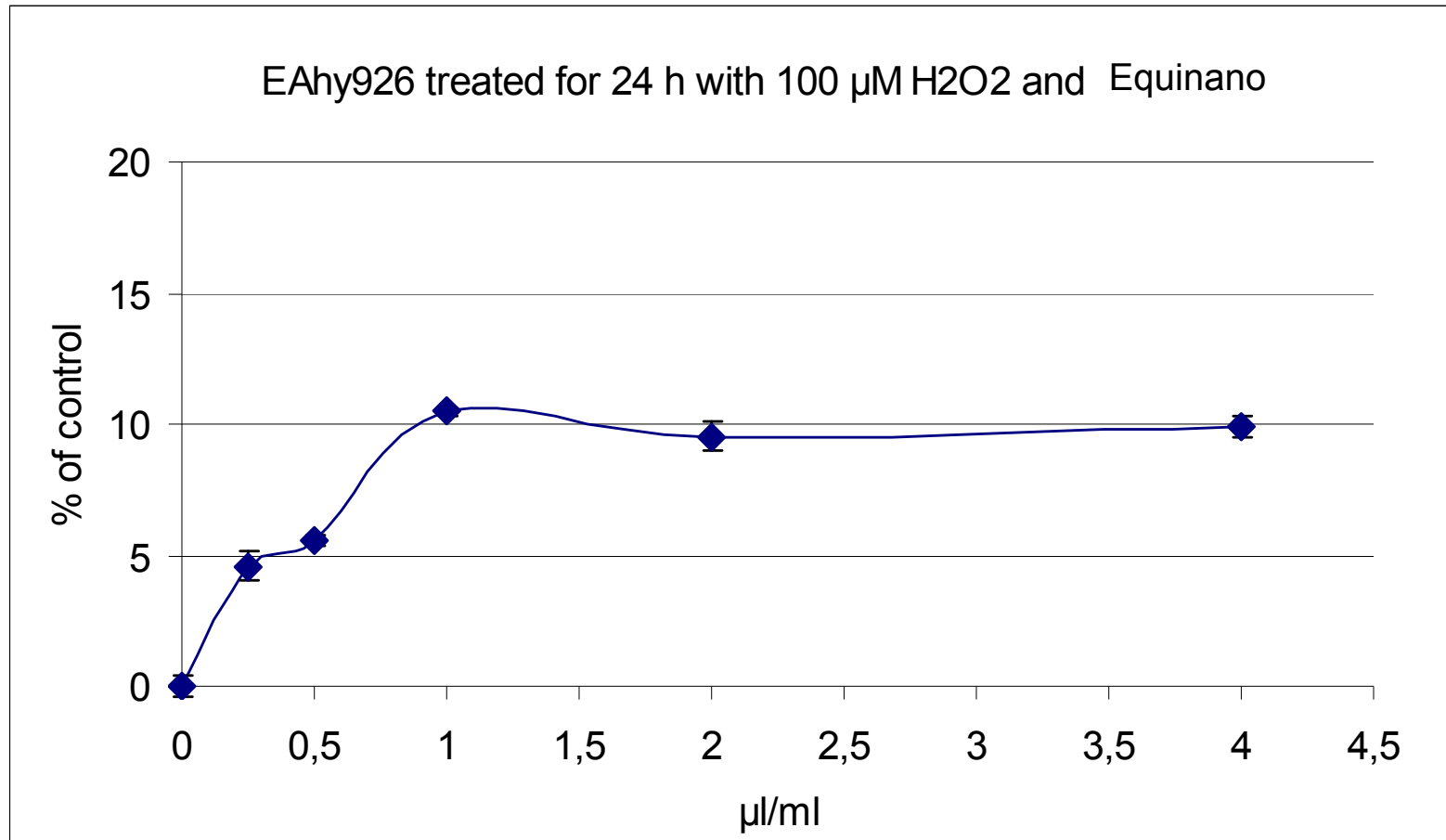




- Zellen werden angezüchtet und mit Wasserstoffperoxid geschädigt
- Bestimmung der Zellzahl (oder Zelleistung) in An- und Abwesenheit der Testsubstanz
- **Anstieg** der Zellzahl weist auf schützende Wirkung der Testsubstanz hin



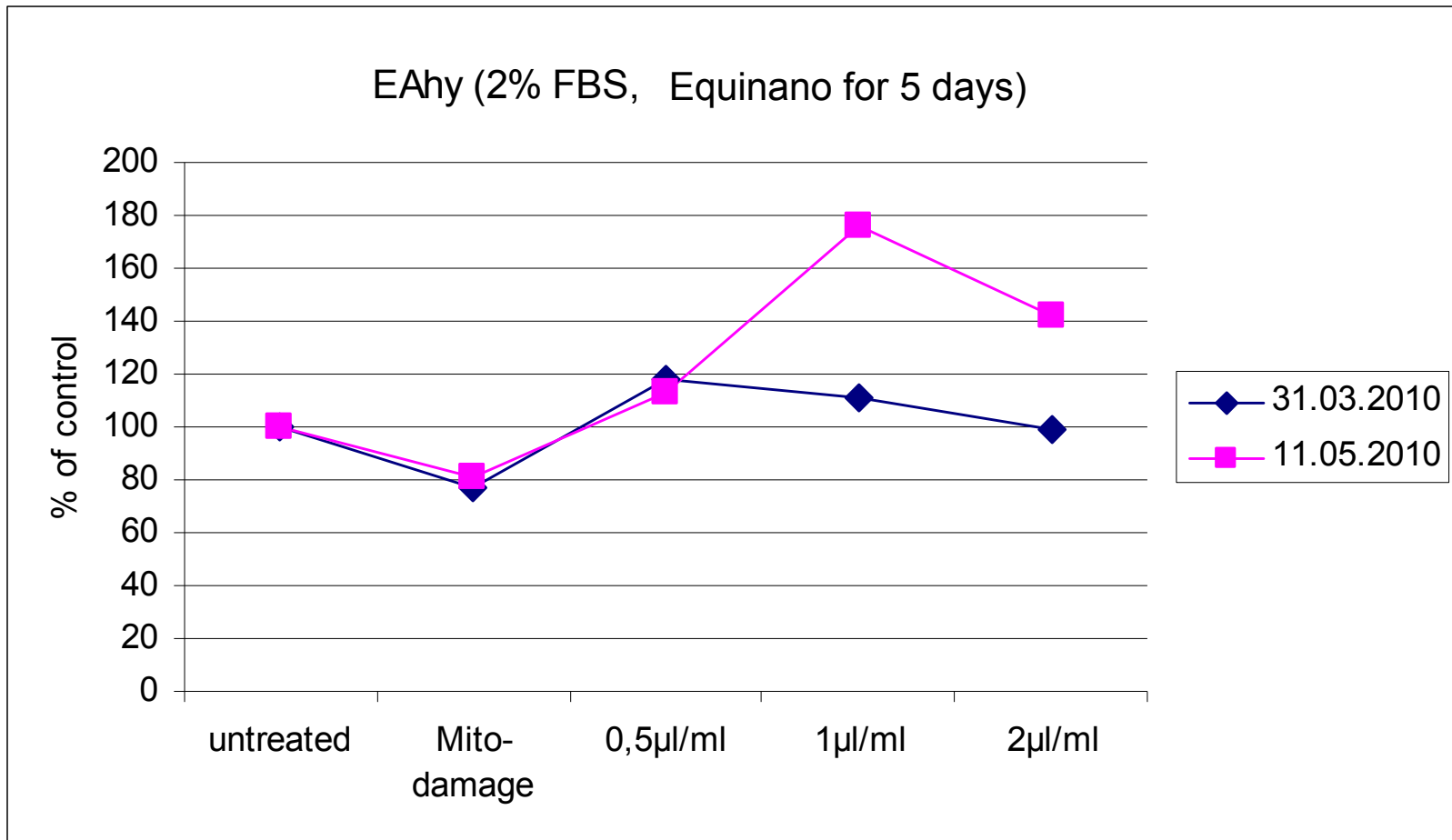
# Equinano bei Zellschädigung





- Zellen werden für 5 Tage in Mangelmedium (2% statt 10% fötales Rinderserum) kultiviert
- Bestimmung der Zellzahl (oder Zelleistung) in An- und Abwesenheit der Testsubstanz
- **Anstieg** der Zellzahl weist auf schützende Wirkung hin

# Equinano in Mangelmedium





- Equinano zeigt in den etablierten Testverfahren keinen toxischen Effekt
- Bei nicht optimalen Wachstumsbedingungen zeigt Equinano einen geringen, aber nachweisbaren, schützenden Effekt



**Danke für Ihre Aufmerksamkeit**