

IUF

LEIBNIZ-INSTITUT  
FÜR UMWELT-  
MEDIZINISCHE  
FORSCHUNG

# Toxikologische Wirkmechanismen von Stäuben

Roel Schins

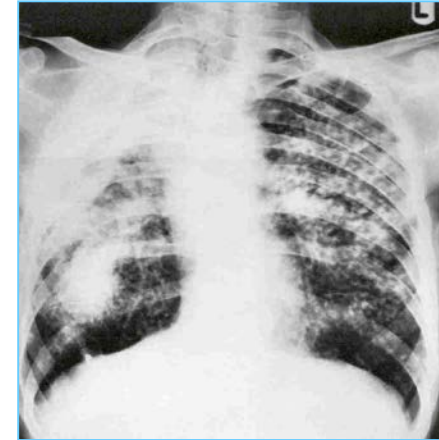
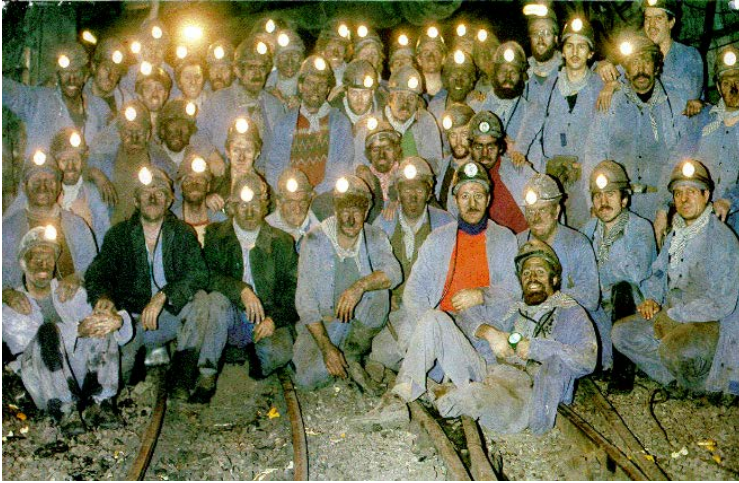
*AG Partikel, Entzündung und Genomintegrität*

*57. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Arbeitsmedizin und Umweltmedizin (DGAUM),  
Hamburg.(15.03.2017)*

Mitglied der

*Leibniz*  
Leibniz-Gemeinschaft

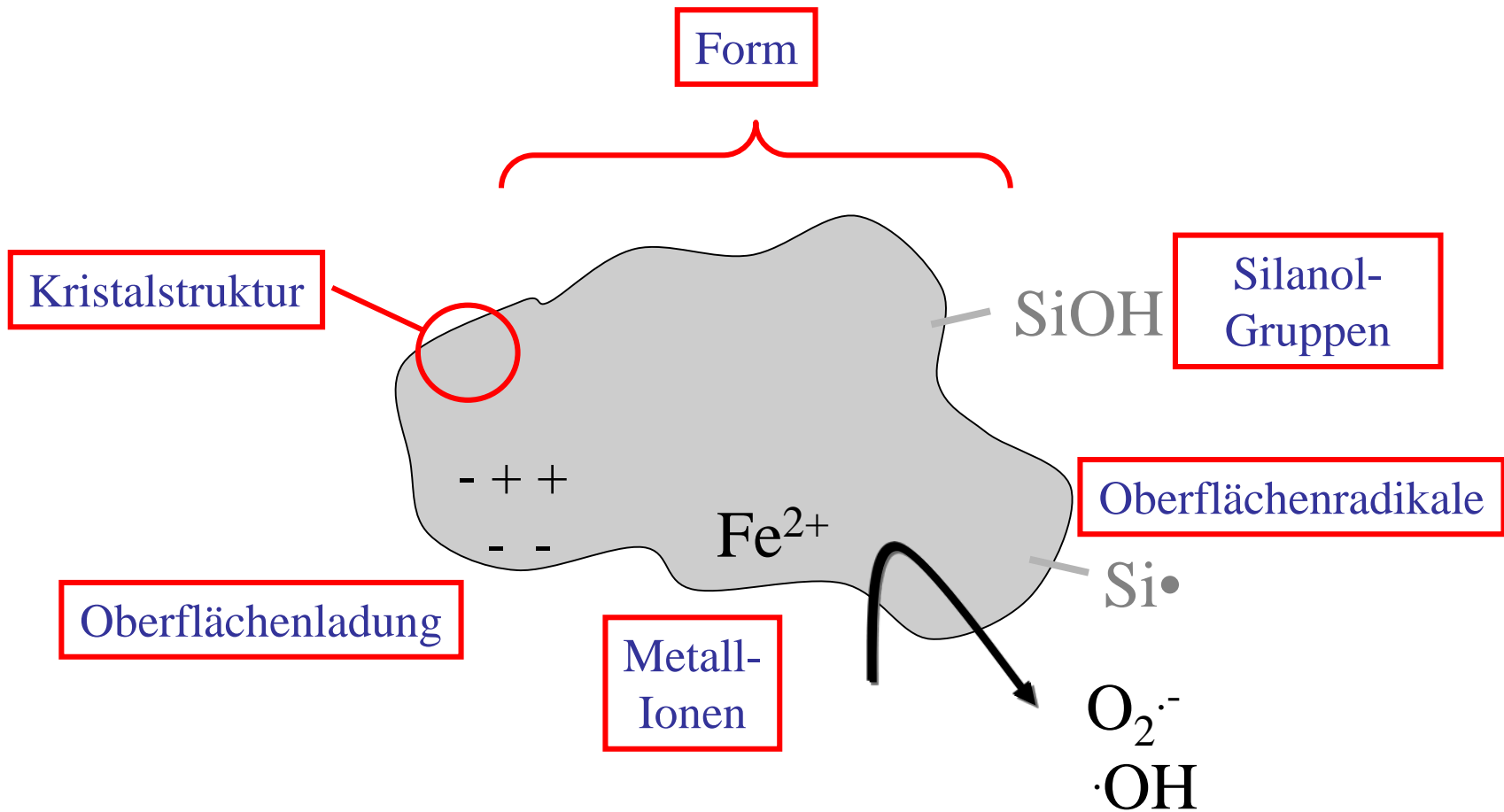
# Kristallines SiO<sub>2</sub>



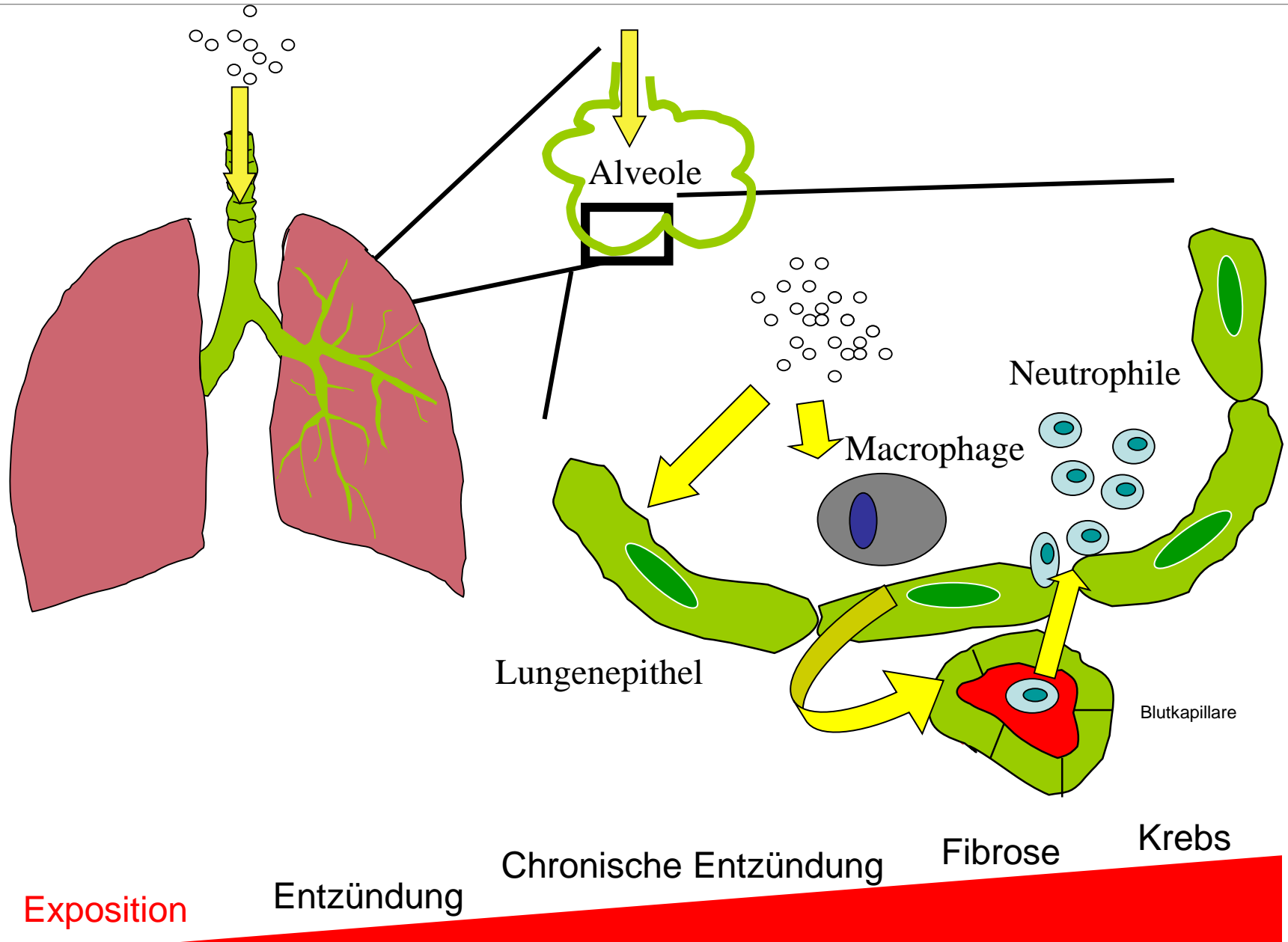
## Silikose

*Morgan and Seaton, Occupational lung diseases*

- α-Quarz, Tridymit, Cristobalit
- Silikose, Lungenkrebs, erhöhtes Tuberkulose-Risiko,..



# Partikeldeposition und Entzündung



## **Spezifische Toxizität:**

- Aktivierung inflammatorischer Signalwege
- Aktivierung proliferativer Signalwege
- Induktion genotoxischer Effekte

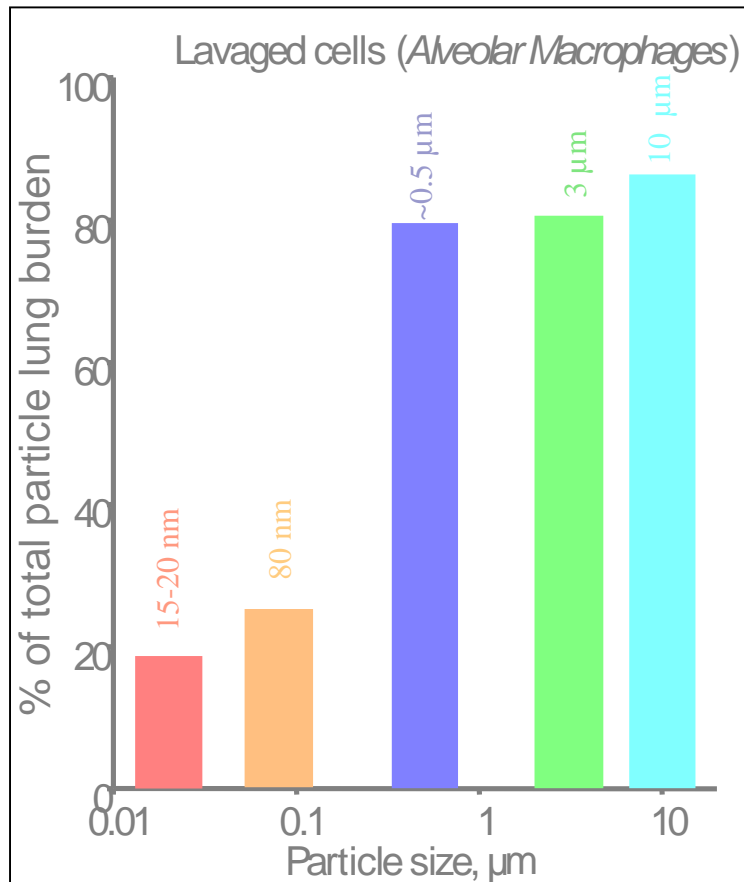
## **Biopersistenz vs. Löslichkeit:**

- Effekte auf Retention (= Deposition – Clearance)
- Physikalische vs. chemische Effekte (Partikeltoxikologie)

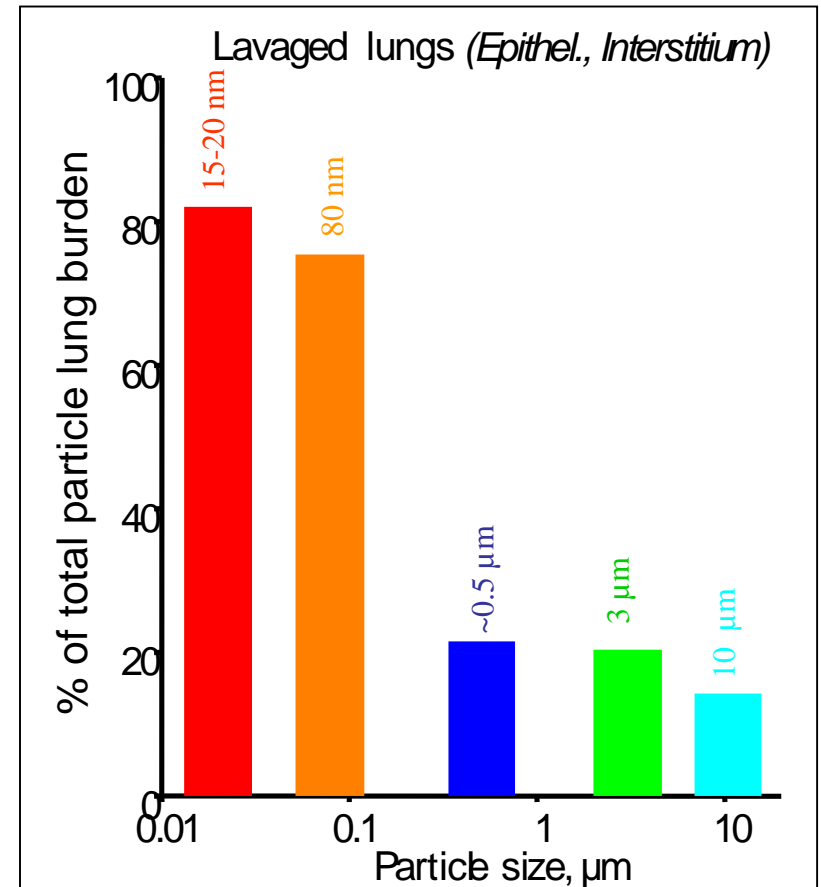
## **Dimensionen (Größe, Form)**

- Fasern (lang-dünn): beeinträchtigte Clearance, Induktion von Entzündung (frustrierte Phagozytose)
- Ultrafeine Partikel (Nanopartikel) – verringerte Clearance (Makrophagen, Ablagerung im Interstitium/Translokation)

# Retention in Abhängigkeit von der Partikelgröße



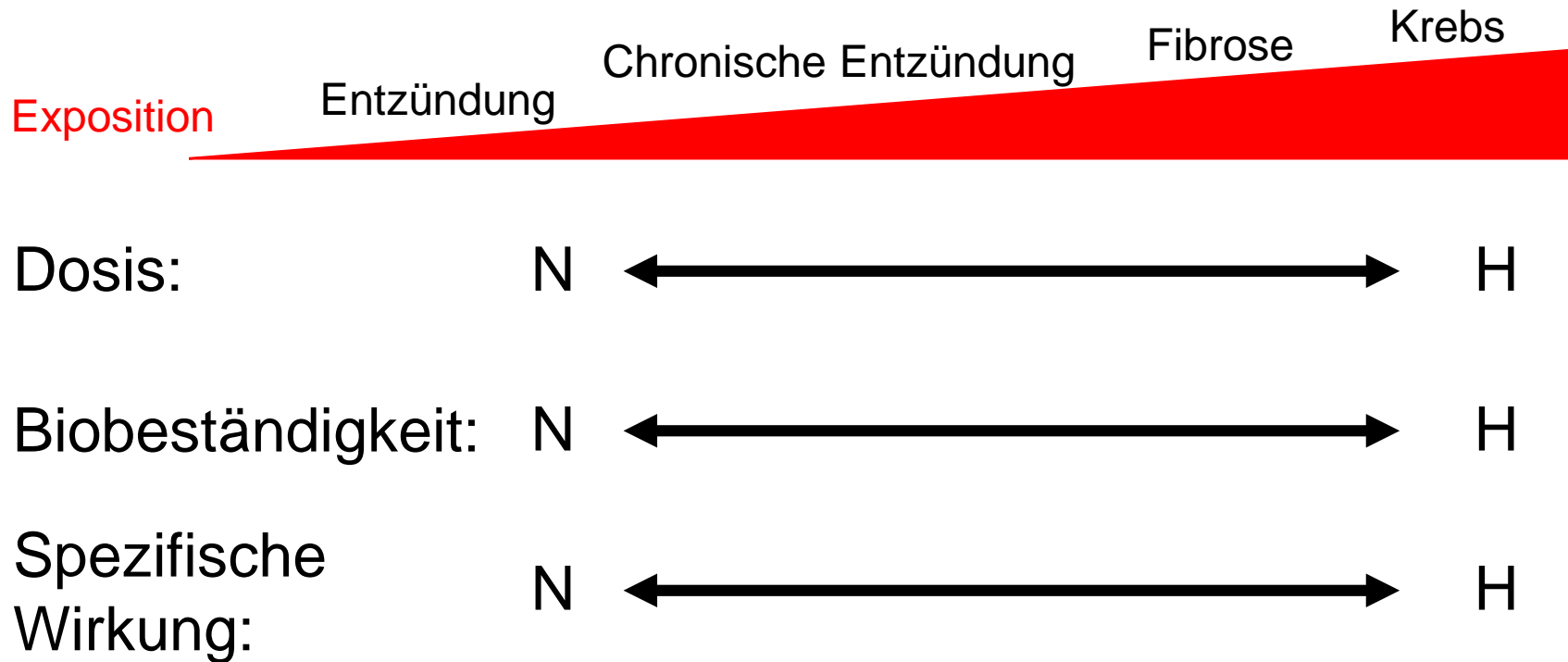
Oberdörster  
et al., 2001;  
Kreyling et al.,  
2002



(t=24h, 2 hours inhalation)

Courtesy: Wolfgang Kreyling

# Faktoren für gesundheitsschädliche Wirkungen in der Lunge



**Granuläre biobeständige Stäube (GBS)**

Ultrafeine Partikel, Fasern

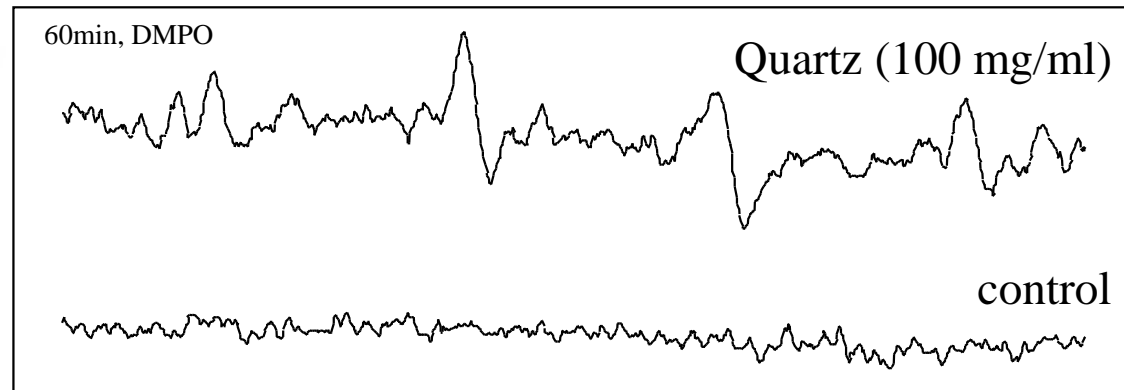
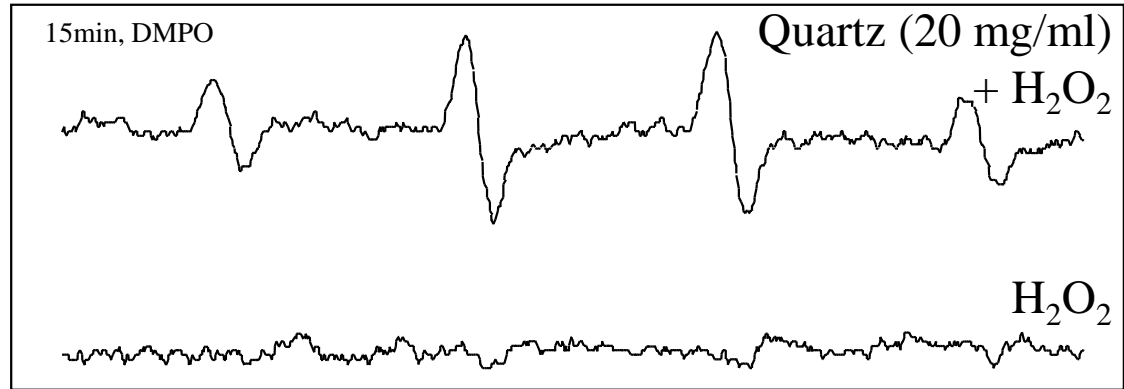
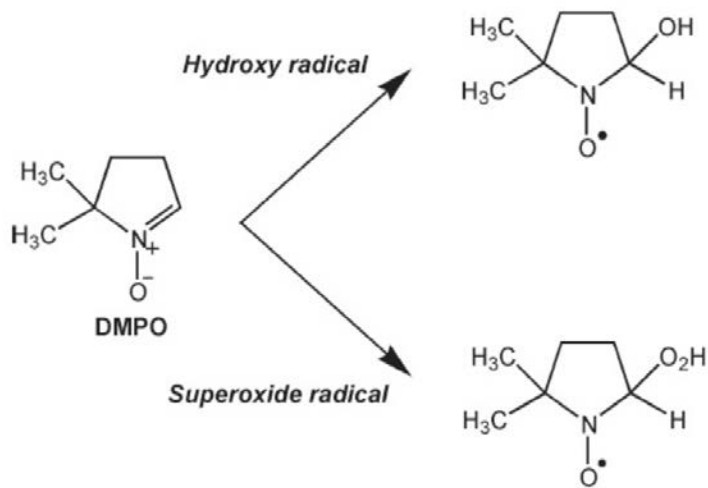
---

# Spezifische Toxizität – Beispiel Quarz



# Generierung reaktiver Sauerstoffspezies durch Quarz

## Nachweis mittels Elektronenspinresonanz (5,5-dimethyl-1-pyrroline-N-oxide)



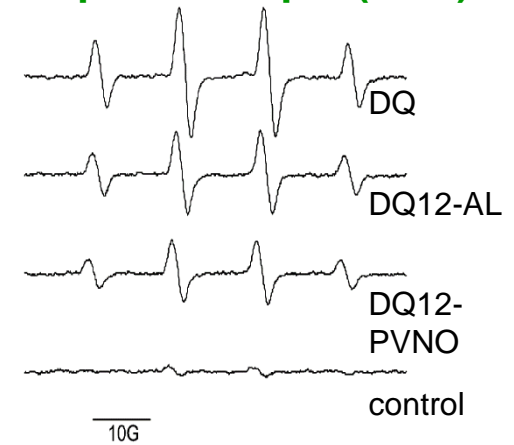
# Toxikologische Untersuchungen von Quarz in der Rattenlung

## DQ12 Quarz

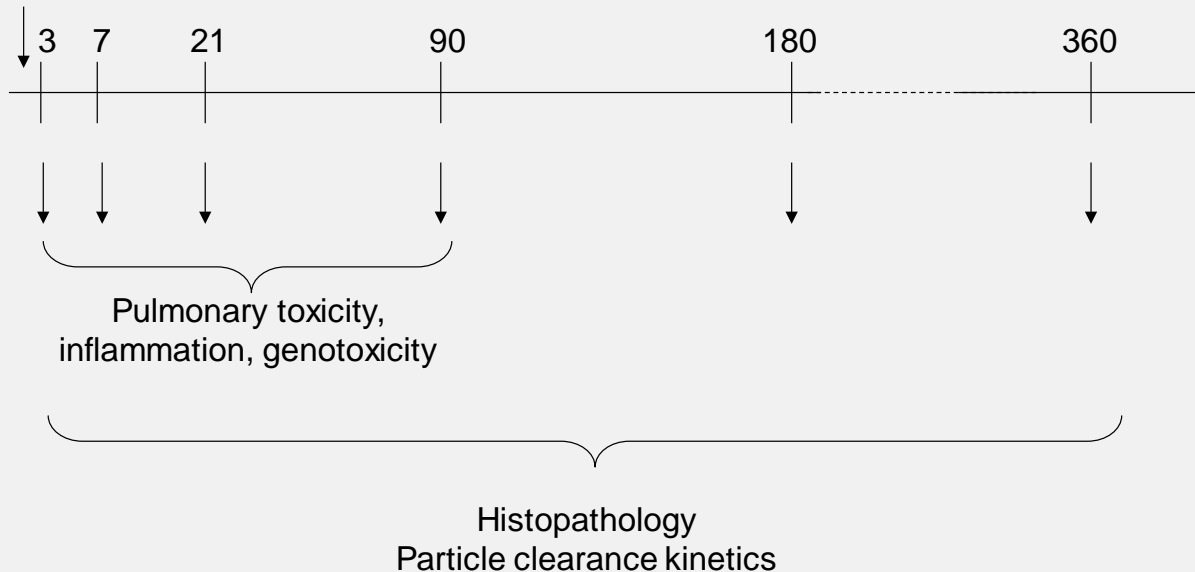
### Oberflächenmodifikation durch:

- *Aluminiumlactat (AL)*
- *Polyvinyl-Pyridin-N-oxid (PVNO)*

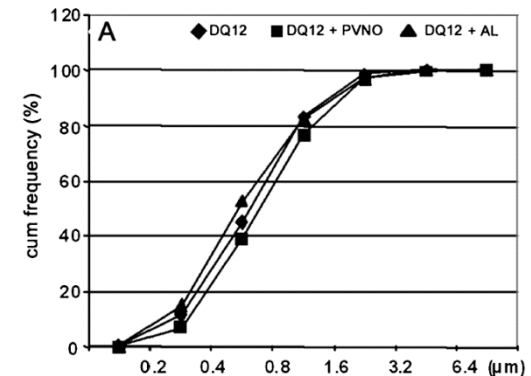
## Elektronenspinresonanzspektroskopie (ESR)



Intratracheal instillation



## Größenverteilung



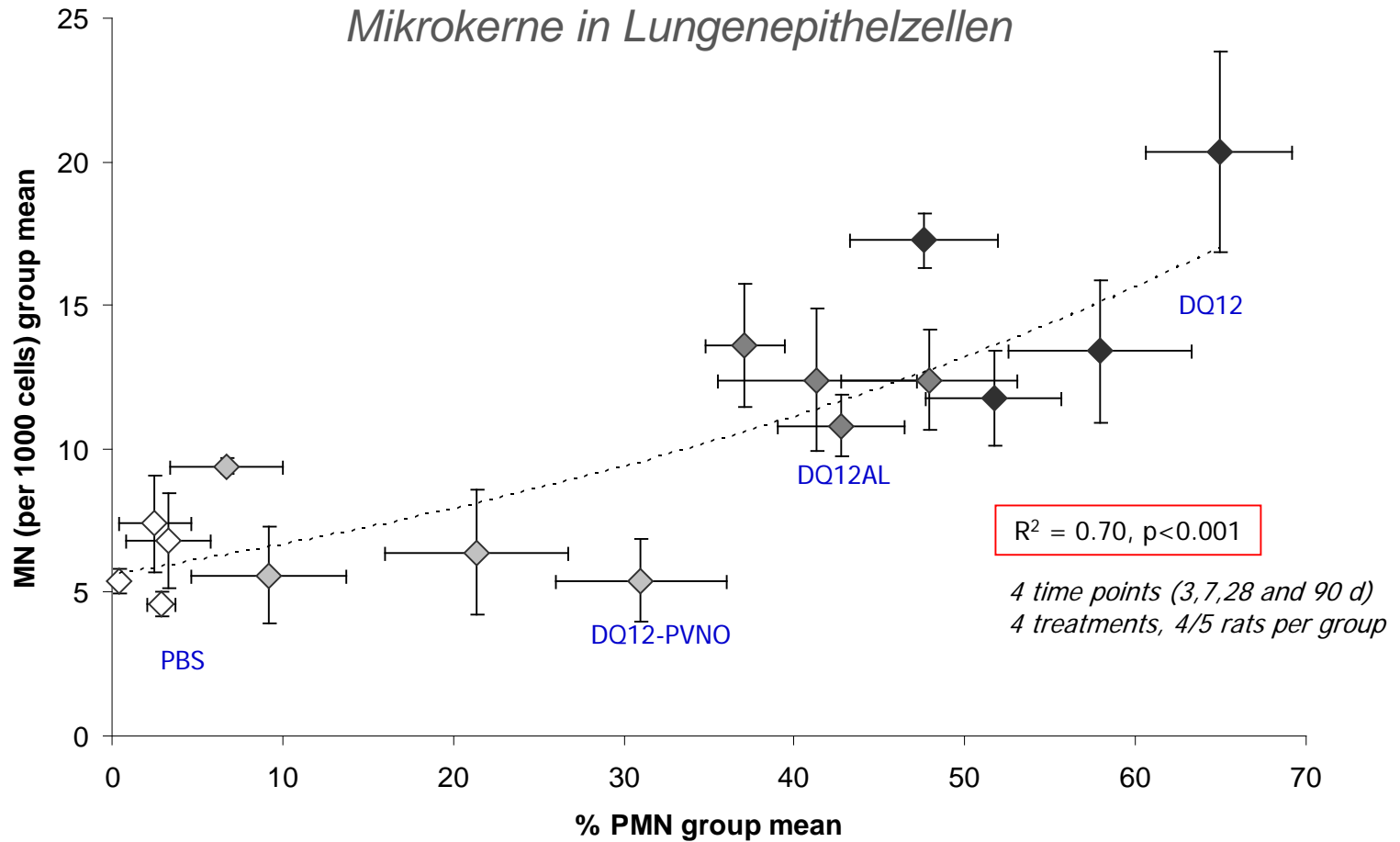
# Oberflächenreaktivität, Entzündung und Retention

Inflammatory parameter and silica burden of lungs treated with native, PVNO- or AL-coated quartz 90 days after a single intratracheal quartz instillation of 2 mg into rats

Parameter	PBS	DQ12	DQ12 + PVNO	DQ12 + AL
Total cells ( $\times 10^5$ )	15.51 $\pm$ 6.83	515.85 $\pm$ 391.33***	36.09 $\pm$ 15.93###	89.07 $\pm$ 28.64##
Total AM ( $\times 10^5$ )	13.7 $\pm$ 5.5	101.9 $\pm$ 72.4**	19.5 $\pm$ 8.8##	25.9 $\pm$ 3.6##
Total PMN ( $\times 10^5$ )	0.07 $\pm$ 0.06	308.28 $\pm$ 254.6***	7.58 $\pm$ 3.86###	44.82 $\pm$ 21.66##
Protein (mg/L)	22.01 $\pm$ 5.88	161.25 $\pm$ 44.44***	29.72 $\pm$ 10.07###	76.44 $\pm$ 27.16***###
LDH (U/L)	15.5 $\pm$ 6.7	515.9 $\pm$ 391.3***	36.1 $\pm$ 15.9###	89.1 $\pm$ 28.6***###
$\beta$ -Glucuronidase (U/ml)	1.3 $\pm$ 2.1	170.0 $\pm$ 38.2***	5.7 $\pm$ 5.6###	70.0 $\pm$ 28.8***###
Silica (% of instilled dose)	n.d.	33.3 $\pm$ 8.6	11.7 $\pm$ 4.2##	22.2 $\pm$ 11.1#

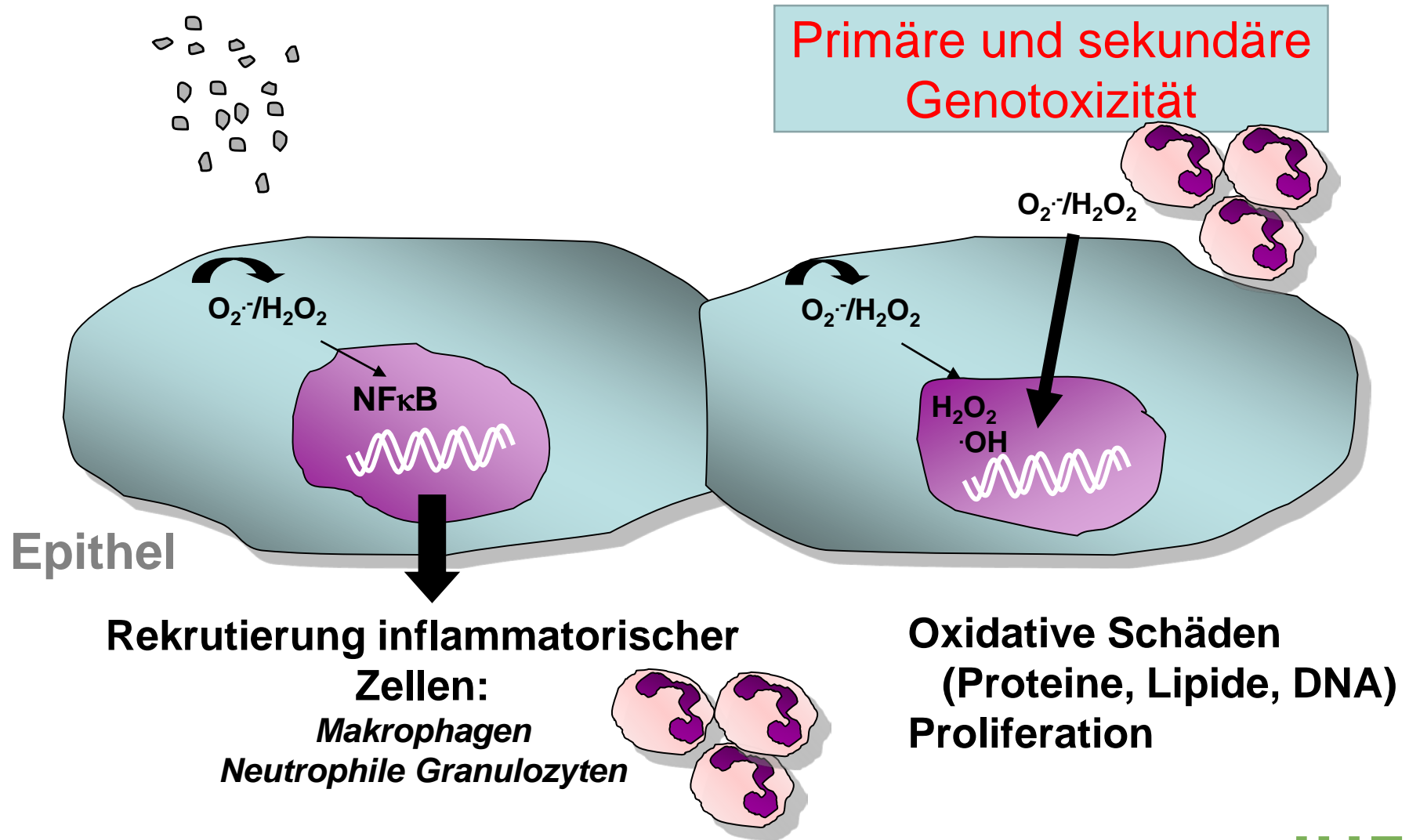
*Note.* Values are means  $\pm$  SE (between brackets) of 5 (total AM, LDH) or 4 (silica burden) rats per treatment; n.d., not determined. Significance tested by ANOVA and post hoc Turkey test. Significantly different from control: \*\*\* $p \leq .001$ , \*\* $p \leq .01$ , \* $p \leq .05$ . Significantly different from native quartz: ### $p \leq .001$ , ## $p \leq .01$ ; # $p \leq .05$ .

# Oberflächenreaktivität, Entzündung und Genotoxizität

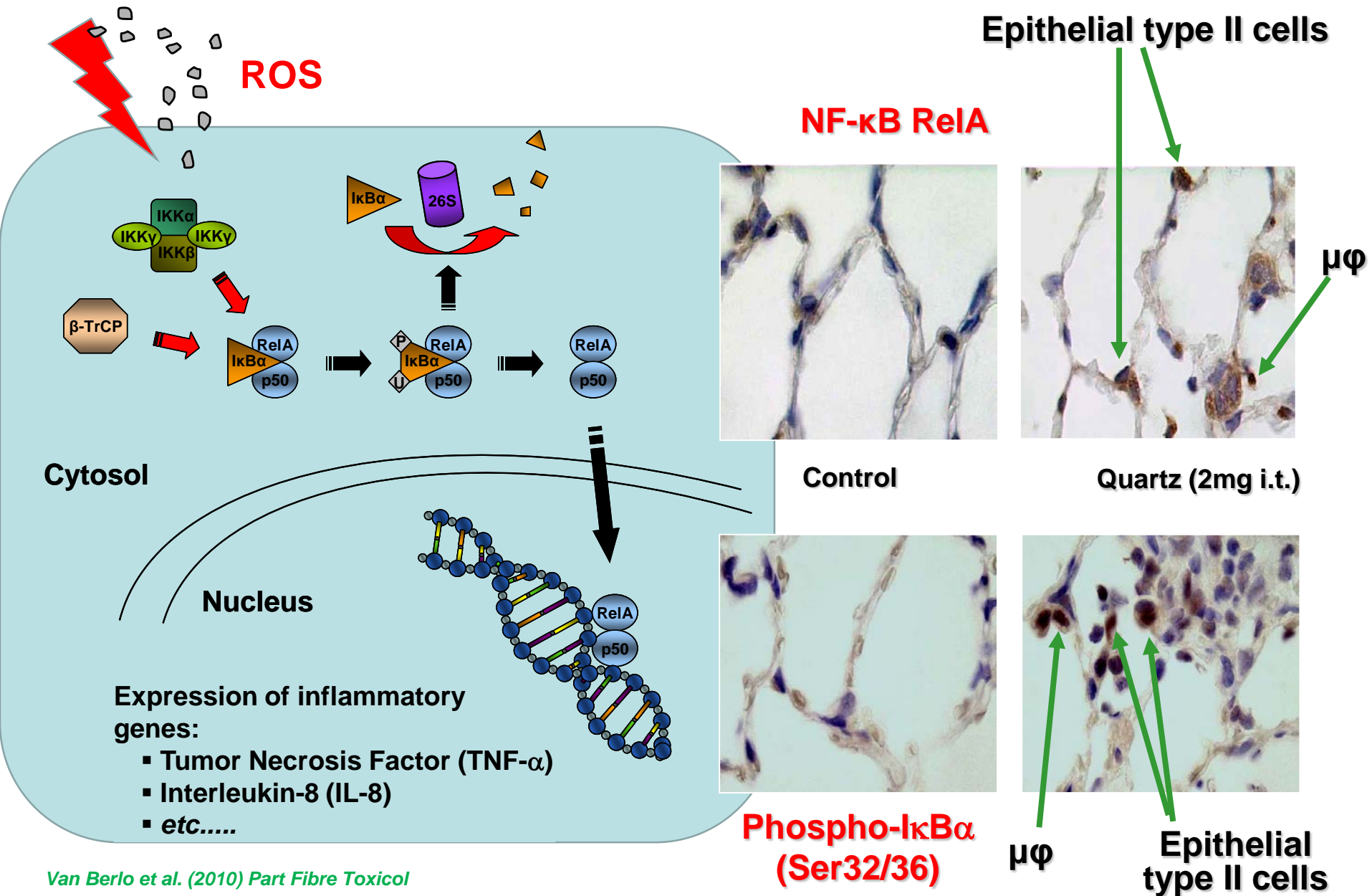


→ Vergleichbare Ergebnisse mittels Comet assay (DNA Strangbrüche)

# Reaktive Sauerstoffspezies und oxidativer Stress



# Oxidativer Stress und NF $\kappa$ B-Aktivierung



# Partikel und der NALP3 Inflammasom-Signalweg

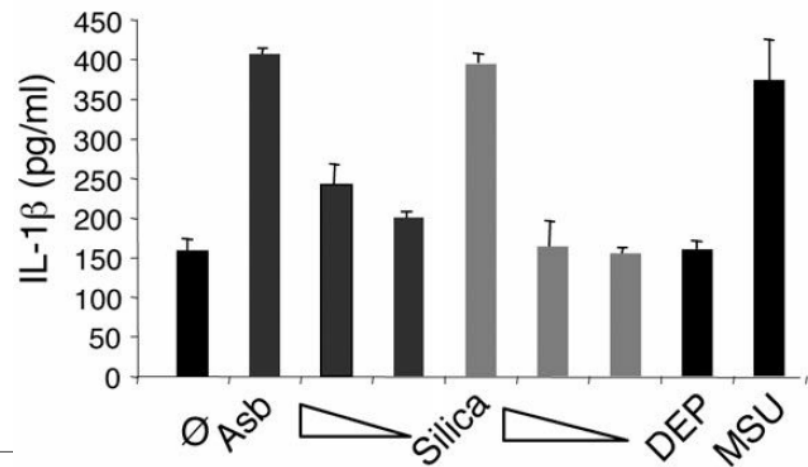
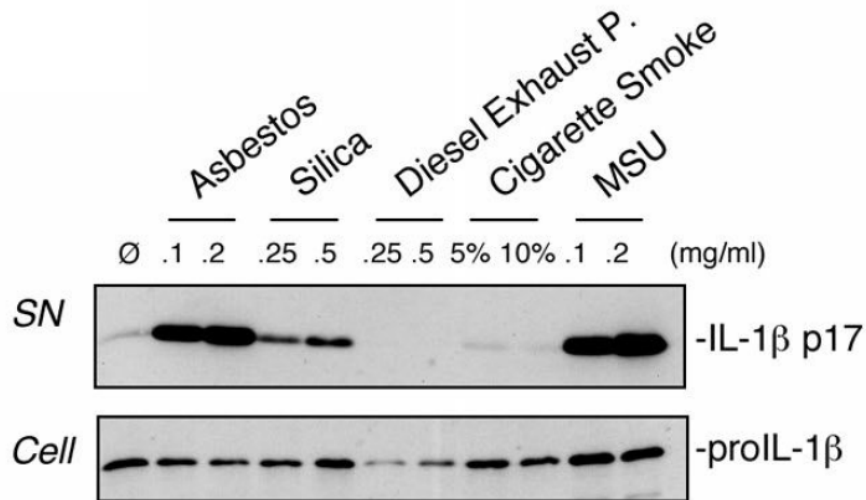
Published in final edited form as:

*Science*. 2008 May 2; 320(5876): 674–677.

## Innate Immune Activation Through Nalp3 Inflammasome Sensing of Asbestos and Silica

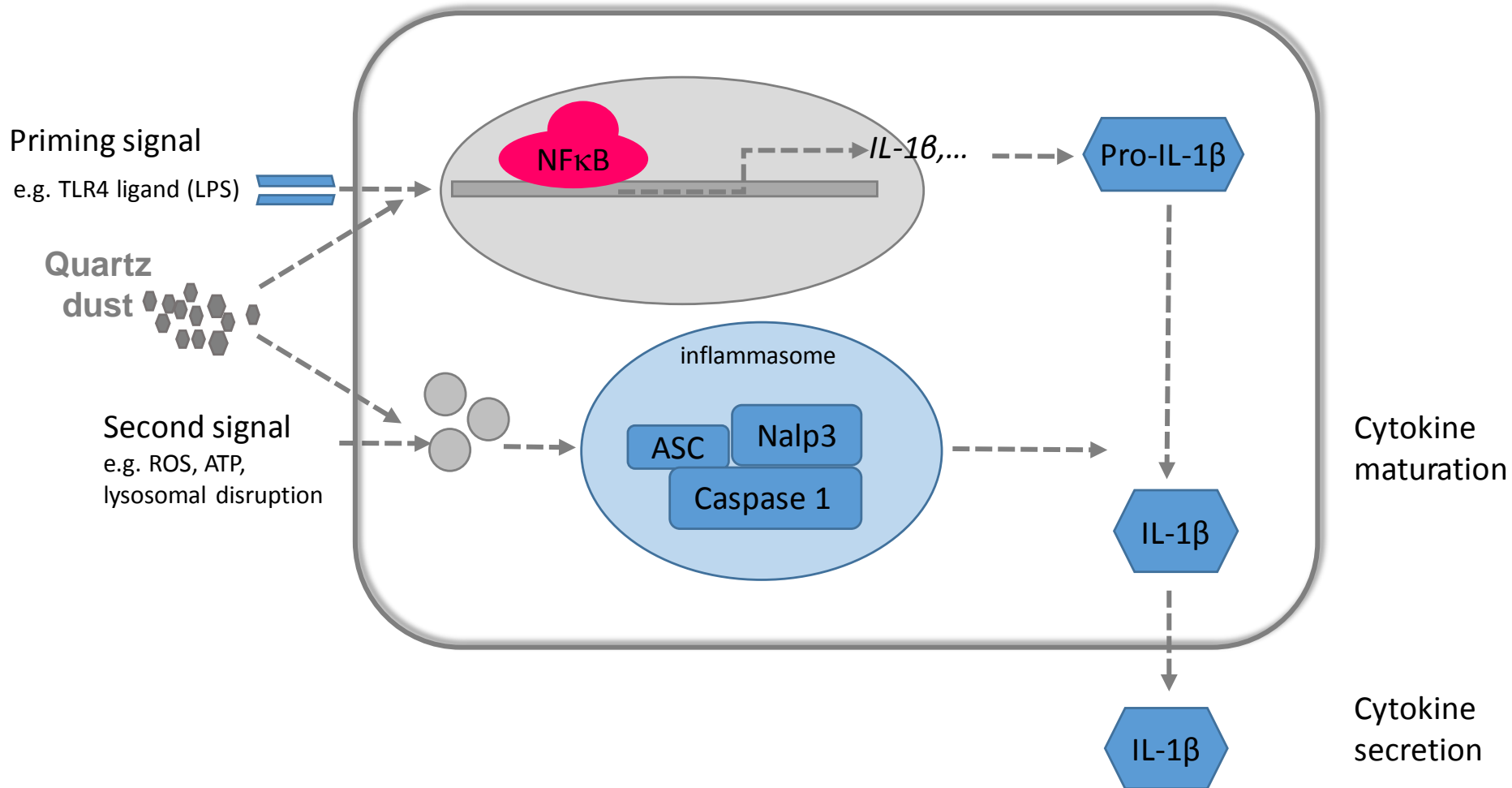
Catherine Dostert<sup>1</sup>, Virginie Pétrilli<sup>1</sup>, Robin Van Bruggen<sup>2</sup>, Chad Steele<sup>3</sup>, Brooke T Mossman<sup>4</sup>, and Jürg Tschopp<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Biochemistry, University of Lausanne, Chemin des Boveresses 155, 1066 Epalinges, Switzerland. <sup>2</sup>Department of Blood Cell Research, Sanquin Research and Landsteiner Laboratory, Academic Medical Center, University of Amsterdam, Amsterdam, Netherlands. <sup>3</sup>Department of Medicine, Division of Pulmonary, Allergy, and Critical Care Medicine, University of Alabama at Birmingham School of Medicine, Birmingham, AL 35294, USA. <sup>4</sup>Department of Pathology, University of Vermont College of Medicine, Burlington, VT 05405, USA.



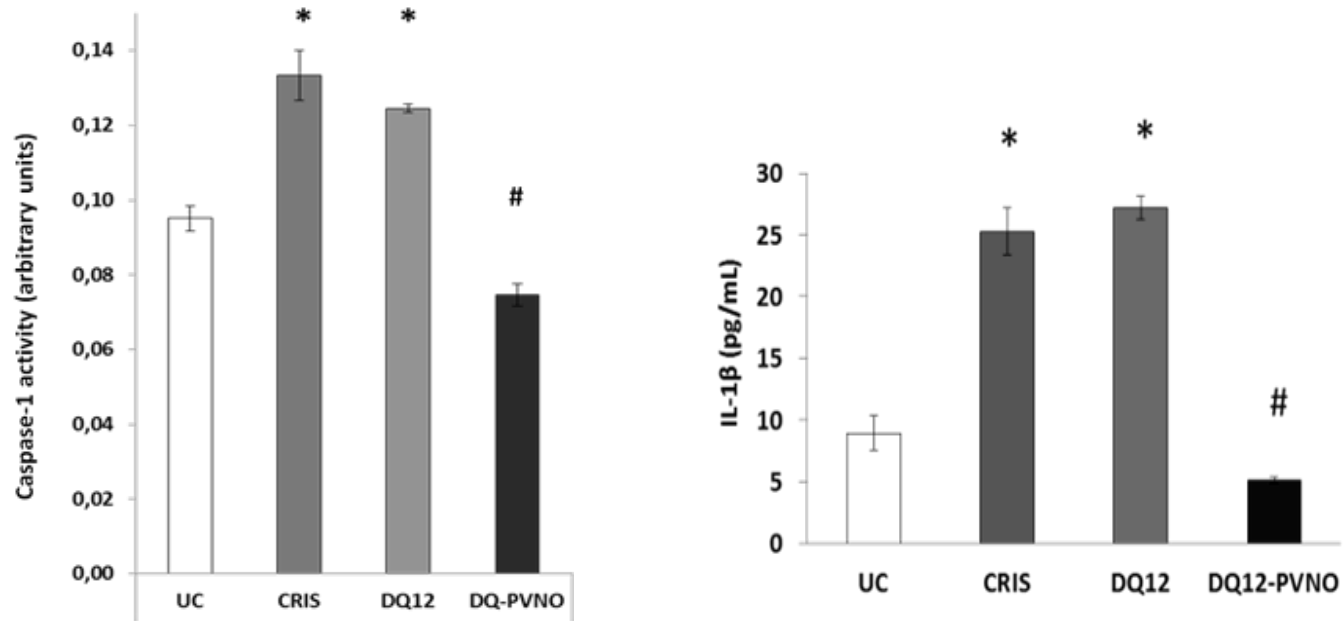
MSU=monosodium urate crystals

# Partikel und der NALP3 Inflammasom-Signalweg

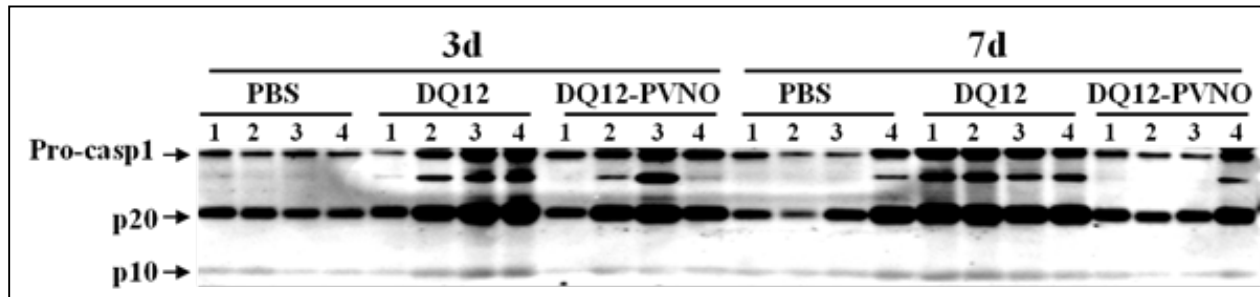




# *In vitro* (BEAS-2B humane Lungenepithel-Zelllinie)



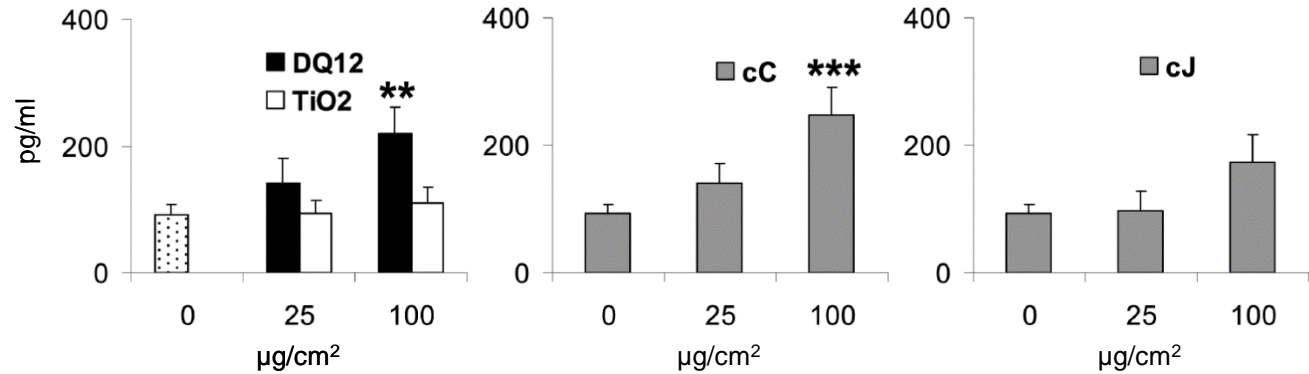
# *In vivo* (Ratte, Bronchoalveoläre Lavageflüssigkeit)



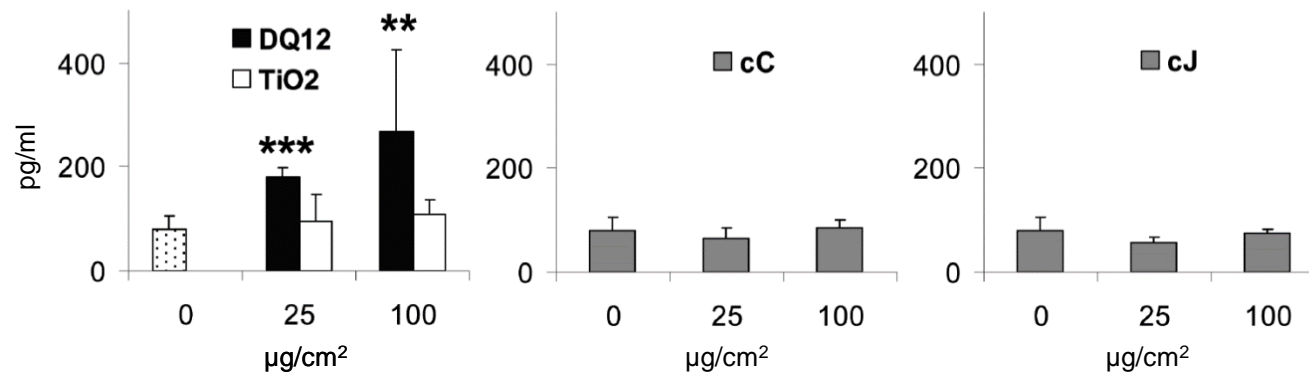
# Gefährdungspotential von Partikeln: NF $\kappa$ B und NALP3

Zytokinausschüttung durch NR8383 Makrophagen *in vitro*

**TNF $\alpha$**   
(NF $\kappa$ B)



**IL1 $\beta$**   
(NALP3)



# Zusammenfassung

---

Physikalische und chemische Eigenschaften beeinflussen die Toxizität von Stäuben (Größe, Form, Löslichkeit, Oberflächenreaktivität,..)

Oxidativer Stress und Entzündung spielen eine bedeutende Rolle bei Partikel-induzierten Lungenerkrankungen (Fibrose, Krebs):

→ *Granuläre biobeständige Stäube (GBS) vs. Stäube mit einer spezifischen Toxizität (z.B. Quarz)*

Die Signalwege NF $\kappa$ B & NALP3 nehmen eine Schlüsselstellung bei der Induktion Partikel-induzierter entzündlicher Prozesse ein.

## REFERENCES:

- Albrecht C, Höhr D, Haberzettl, Becker A, Borm PJA, Schins RPF. Surface-dependent quartz-uptake by macrophages: potential role in pulmonary inflammation and lung clearance. *Inhal Toxicol* 2007;19(suppl 1):39-48.
- Albrecht C, Knaapen AM, Cakmak GD, Coskun E, Van Schooten FJ, Borm PJA, Schins RPF. Genomic instability in quartz dust exposed rat lungs: Is inflammation responsible? *J Phys Conf Ser* 2009;151:012014
- Albrecht C, Schins RPF, Höhr D, Becker A, Shi T, Knaapen AM, Borm PJA. Inflammatory time course following quartz instillation: role of TNF-alpha and particle surface. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2004; 31: 292-301.
- Dostert C, Pétrilli V, Van Bruggen R, Steele C, Mossman BT, Tschopp J. Innate immune activation through Nalp3 inflammasome sensing of asbestos and silica. *Science*. 2008 May 2;320(5876):674-7. doi: 10.1126/science.1156995. Epub 2008 Apr 10.
- Fubini B. Surface chemistry and quartz hazard. *Ann Occup Hyg*. 1998 Nov;42(8):521-30.
- Knaapen AM, Schins RPF, Polat D, Becker A, Borm PJA. Mechanisms of neutrophil-induced DNA damage in respiratory tract epithelial cells. *Mol Cell Biochem* 2002;234/235:143-151.
- Kreyling WG, Schumann G, Ziesenis A. Particles are predominantly transported from the canine epithelium towards the interstitial spaces and not to larynx! Analogy to human lungs? *Am. J. Respir. Crit. Care Med*. 2001;163:A166.
- Kreylinf WG, Semmler M, Erbe F, Mayer P, Takenaka S, Schulz H, Oberdörster G, Ziesenis A. 2002. Translocation of ultrafine insoluble iridium particles from lung epithelium to extrapulmonary organs is size dependent but very low. *Journal of Toxicology and Environmental Health-Part A*, 65, 1513-1530.
- Morgan WKC, Seaton A (Eds): *Occupational Lung Diseases*. 3rd Edition, WB Saunders, Philadelphia. Philadelphia: WB Saunders; 1995.
- Peeters PM, Eurlings IMJ, Perkins TN, Wouters EF, Schins RPF, Borm PJA, Drommer W, Reynaert NL, Albrecht C. Silica-Induced NLRP3 Inflammasome Activation In vitro and in Rat Lungs. *Part Fibre Toxicol* 2014;11(1):58.
- Schins RPF, Knaapen AM, Cakmak GD, Shi T, Weishaupt C, Borm PJA. Oxidant-induced DNA damage by quartz in alveolar epithelial cells. *Mutat Res* 2002;517(1-2):77-86.
- Stone V, Johnston H, Schins RPF. Development of in vitro systems for Nanotoxicology - Methodological Considerations. *Crit Rev Toxicol* 2009; 39:613-626.
- Van Berlo D, Haberzettl P, Gerloff K, Li H, Scherbarth A, Albrecht C, Schins RPF. Investigation of the cytotoxic and proinflammatory effects of cement dusts in rat alveolar macrophages. *Chem Res Toxicol* 2009;39:613-626.
- Van Berlo D, Knaapen AM, Van Schooten FJ, Schins RPF, Albrecht C. NF-kB dependent and independent mechanisms of quartz-induced proinflammatory activation of lung epithelial cells. *Part Fibre Toxicol* 2010;7:13.