

“Inflammatory effects of titanium dioxide nanoparticles on human colonic epithelial Caco-2 cells”

M.Sc. Kristin Krüger

1. Berichterstatter: PD Dr. Martin Klempt

In den letzten Jahren erhält die Nanotechnologie zunehmend Einzug in verschiedenste Verbraucherprodukte. Nanopartikel (NP) sind Teilchen mit einer Größe von 1 bis 100 nm und zeichnen sich durch ein großes Oberfläche-zu-Volumen-Verhältnis aus, wodurch sie spezifische physikalische und chemische Eigenschaften besitzen. Sie finden Einsatz in weiten Teilen der Medizin, Kosmetik, Elektronik, Chemie, sowie in Lebensmitteln. Eines der meist verwendeten Nanomaterialien ist das Titandioxid (TiO₂), welches als Weißpigment z.B. in Kaugummis, Zahnpasta oder Sonnencremes Anwendung findet. Die zunehmende Verbreitung von TiO₂ NP, vor allem in der Lebensmittelindustrie (als Zusatzstoff E171), führt zu einer erhöhten oralen Aufnahme und folglich zu einer erhöhten Exposition im Magen-Darm-Trakt. Studien an Mäusen belegen, dass oral aufgenommene TiO₂ NP über den Dünndarm resorbiert und anschließend zu einer Entzündung führten. Darüber hinaus ist die Behandlung von TiO₂ NP in unterschiedlichen *in vitro* und *in vivo* Studien mit inflammatorischen, zytotoxischen und genotoxischen Effekten assoziiert. Die konkreten Auswirkungen der TiO₂ NP auf intestinale Epithelzellen und die genauen intrazellulären Signalmechanismen sind bisher nicht geklärt.

Um die inflammatorischen Effekte von TiO₂ NP auf humane Darmzellen (Caco-2 Zellen) zu untersuchen, wurden TiO₂ NP verschiedener Größen von 5 nm, 10 nm, 32 nm und 490 nm verwendet. Die Charakterisierung der Partikel zeigte, dass die 5 nm und 10 nm Partikel im Medium Agglomerate bildeten, während die 32 nm und 490 nm Partikel einzeln vorlagen. Die Caco-2 Zellen wurden über einen Zeitraum von bis zu 25 Tagen mit den TiO₂ NP behandelt. Dabei induzierten die agglomerat-bildenden Partikel eine kurzfristige bis 24 h anhaltende inflammatorische Antwort, die über den epidermalen Wachstumsfaktorrezeptor (EGFR) vermittelt wurde. Die 32 nm und 490 nm großen Partikel zeigten keine Effekte. An der Entstehung der inflammatorischen Antwort waren Strukturen beteiligt, die auch in der Endocytose eine entscheidende Rolle spielen. Aktin- und Tubulin-Filamente, sowie Dynamin, welches neu gebildete Vesikel abschnürt, wurden für die NP-induzierte inflammatorische Antwort benötigt. Die NP bewirkten die Stimulation des EGFRs und führten zur Aktivierung weiterer Signalkaskaden. Über den EGFR kam es zur Phosphorylierung der extrazellulär regulierten Kinase (ERK), sowie der damit verbundenen Expression der Gene C-C Chemokinligand 2 (CCL2) und C-X-C Chemokinligand 3 (CXCL3). Gleichzeitig wurde die mRNA Expression folgender inflammatorischer Gene erhöht: Intrazelluläres Adhäsionsmolekül 1 (ICAM1), C-C Chemokinligand 20 (CCL20), Cyclooxygenase 2 (COX2), Heat Shock Protein 70B' (HSP70B') und Interleukin 8 (IL8). Die gesteigerte Expression der IL8 mRNA erfolgte teilweise über die Aktivierung des Nuklear Faktor kappa B (NF-κB) sowie des p38 Mitogen-aktivierte Proteinkinase (MAPK) Signalweges. In den Caco-2 Zellen, die länger als 24 h den TiO₂ NP ausgesetzt waren, zeigten sich keine erkennbaren Unterschiede zu den Kontrollzellen.

Zusammenfassend zeigt die vorliegende Arbeit, dass TiO₂ NP der Größen 5 nm und 10 nm eine Aktivierung des EGFRs induzieren. Dies führt zu einer Aktivierung der ERK/NF-κB/p38 MAPK Signalwege unter Beteiligung von Strukturen, die im Zusammenhang mit der Endocytose stehen. Die Aktivierung der Signalwege bewirken eine Hochregulierung der damit verbundenen pro-inflammatorischen Mediatoren und Cytokinen. Es ist anzunehmen, dass eine Aktivierung dieser Signalwege auch *in vivo* eine Inflammation im Darm hervorruft. Bestehende Zweifel an der Nutzung von TiO₂ NP als Lebensmittelzusatzstoff, besonders bei Größen ≤ 20 nm, werden durch diese Ergebnisse bestärkt.