

Effekte superparamagnetischer Eisenoxid Nanopartikel (SPIONs) auf Endothelzellen: Relevanz für die Atherosklerose der Karotis

Jasmin Matuszak*, Jan Zaloga, Stefan Lyer, Christoph Alexiou und Iwona Cicha

HNO-Klinik, SEON - Sektion für Experimentelle Onkologie und Nanomedizin - Else Kröner-Fresenius-Stiftungsprofessur, Universitätsklinikum Erlangen,

Hintergrund

Atherosklerotische Plaques der Karotis bedingen Stenosen und zahlreiche kardiovaskuläre Erkrankungen. Magnetisches Targeting ist eine neuartige Methode, um Medikament-beladene Nanopartikel im Bereich atherosklerotischer Läsionen anzureichern, so dass Nebenwirkungen der Medikamente reduziert und gleichzeitig die Effektivität gesteigert wird. Da nur wenig über die biologische Wirkung von magnetischen Nanopartikeln auf vaskuläre Zellen bekannt ist, war es unser Ziel, Effekte von SPIONs (superparamagnetic iron oxide nanoparticles) auf die Viabilität, Morphologie und Funktion von Endothelzellen zu untersuchen.

Methoden

Humane Endothelzellen (ECs) aus der Nabelschnurvene wurden in einem Bifurkations-Durchflussmodell (Ibidi, München) bis zu einer Konfluenz von 90% kultiviert und dann unter physiologischen Bedingungen) mit SPION-haltigen Medium perfundiert. Die Zellen wurden bei 10 dyne/cm² für 18h mit SPION-haltigem Medium bei Konzentrationen von 30µg/ml (ohne Magnet) oder 3µg/ml (mit Magnet) perfundiert. Morphologie und Widerstand der Zellen gegen physiologisch ähnliche Level von Schubkräften wurden durch verlängerte Perfusion (ohne SPION) bis zu 96h, nach der anfänglichen Partikelbehandlung, untersucht. Partikelaufnahme und Anreicherung wurden durch Berliner-Blau Färbung nachgewiesen. Die Effekte der SPION auf die TNF-α abhängige Rekrutierung von Monozyten wurde ebenfalls im Bifurkations-Durchflussmodell analysiert. Die Viabilität der ECs unter statischen Bedingungen wurde mit dem xCELLigence System (RTCA DP Analyzer, ACEA Bioscience, San Diego) untersucht. Die Experimente wurden in 16-well E-Plates durchgeführt, welche die Impedanz mit Hilfe einer Goldelektrode am Boden. Nach 24h wurden die ECs mit verschiedenen Konzentrationen von Partikeln behandelt. Die Messungen erfolgten bis zu 72h nach Partikelzugabe.

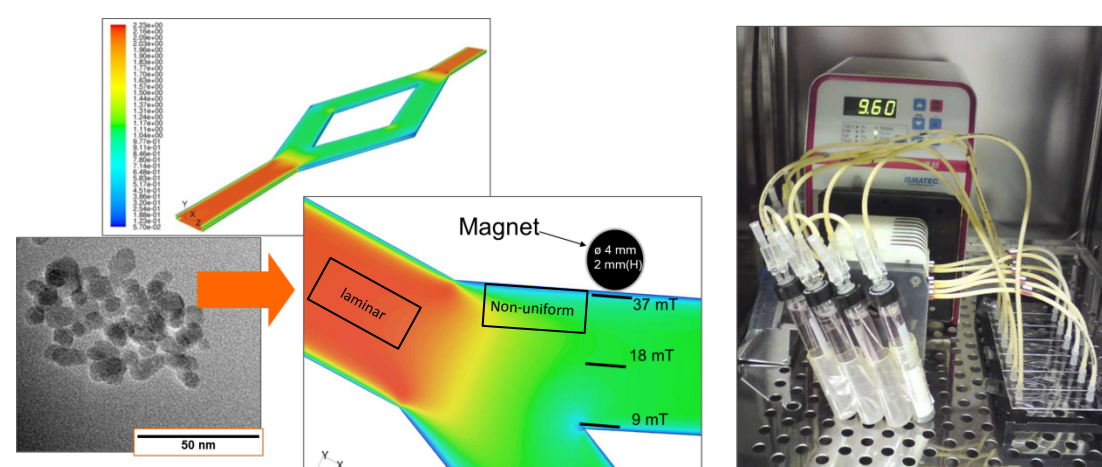


Fig. 1: In vitro Modell der arteriellen Bifurkation

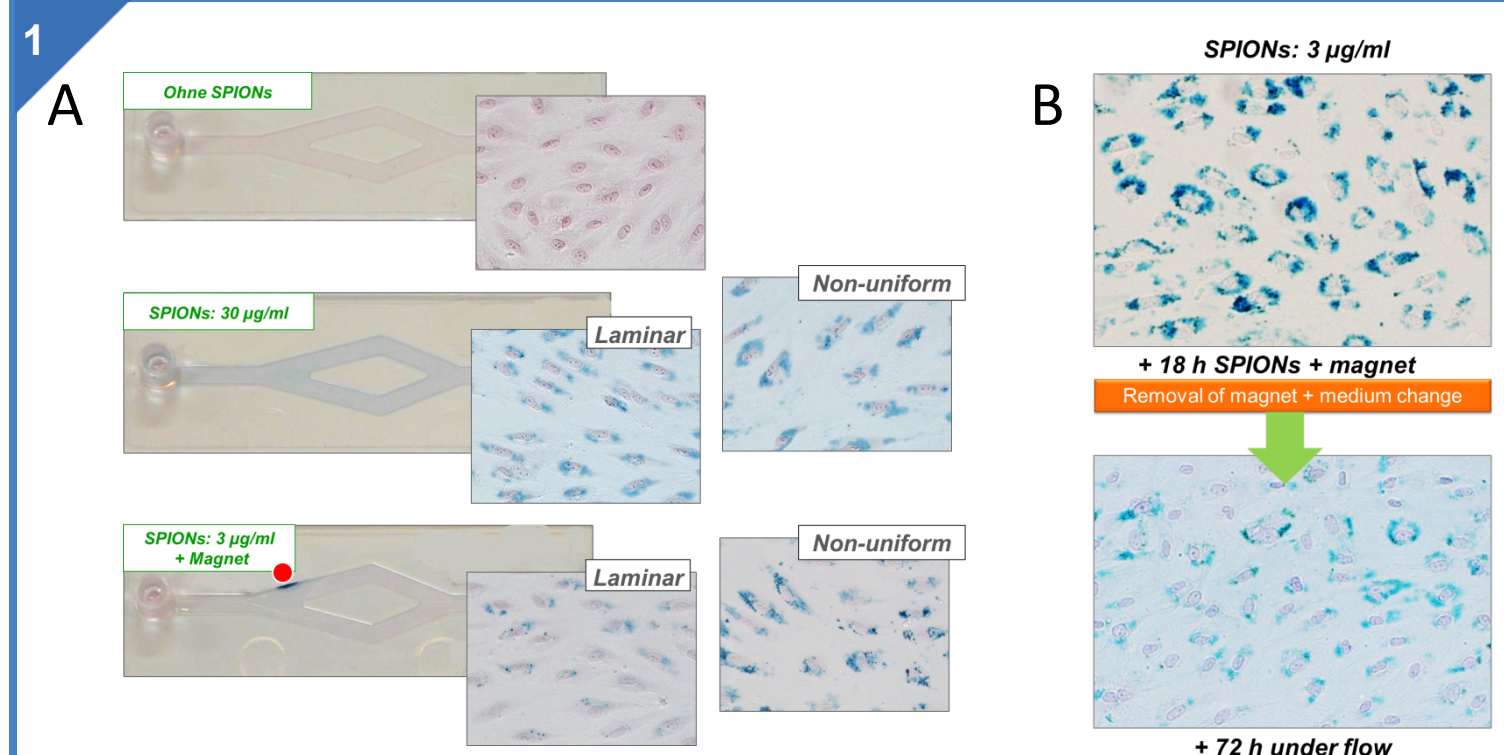


Fig. 2:(A) Verstärkte Anreicherung von SPION durch eine externe Magnetquelle und (B) Wirkung der erhöhten SPION Aufnahme auf die endotheliale Zellviabilität

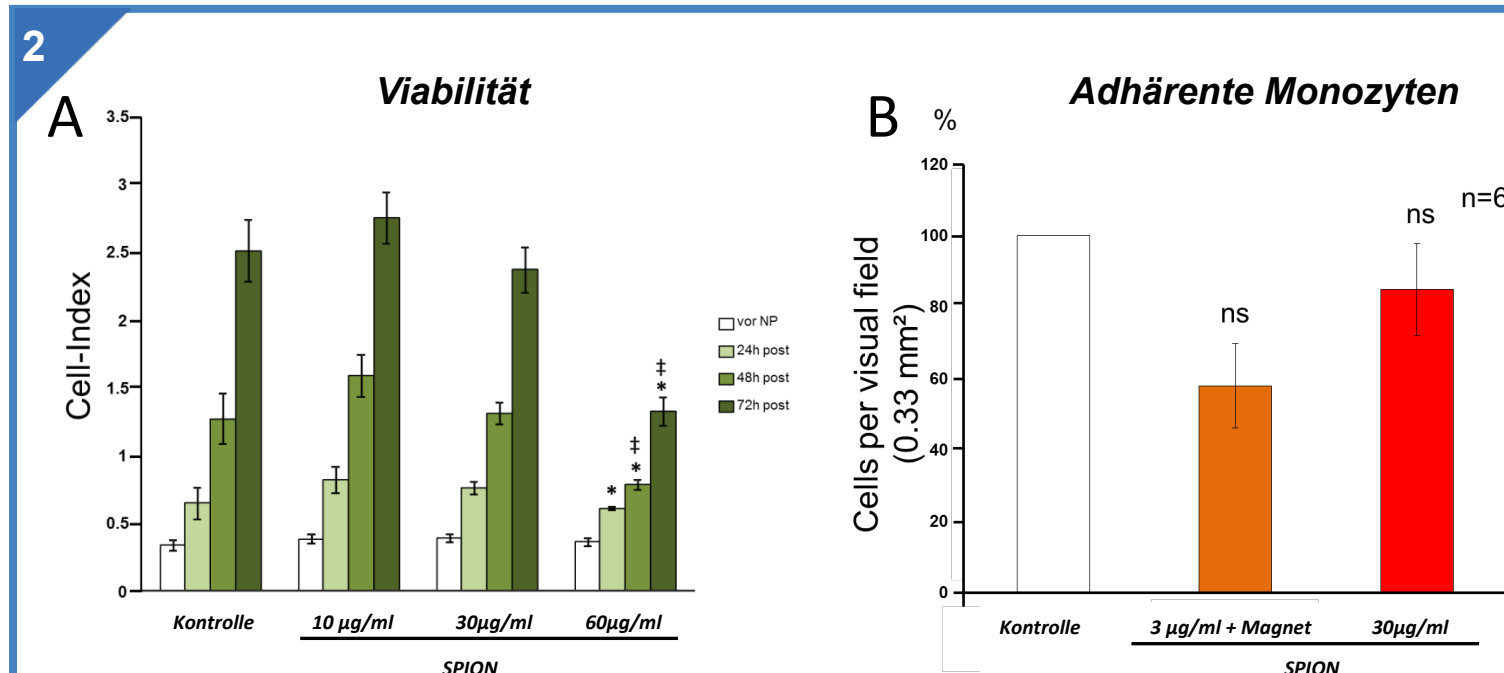


Fig. 3: (A) Viabilität unter statischen Bedingungen und (B) TNF-α induzierte Anlagerung von Monozyten unter non-uniform Schubspannungen. *p<0.05 versus Kontrolle, ‡ p<0.05 versus 10 und 30 µg/ml (one-way ANOVA).

Ergebnisse

1A) In Abwesenheit eines Magnetfeldes wurde eine gleichmäßige Aufnahme der SPIONs, unabhängig von Kanalgeometrie oder hämodynamischen Bedingungen, beobachtet. Mit externem Magneten konnte die Anreicherung von SPION in Bereichen mit non-uniformer Schubspannung gesteigert werden, mit gleichzeitiger Verringerung der Aufnahme im Bereich mit laminaren Schubspannungen.

1B) Die gezielte Anreicherung von SPION wurde von ECs gut vertragen und hat die Viabilität oder den Widerstand gegen andauernde Schubspannungen auch über einen Zeitraum von mehreren Tagen nicht beeinflusst.

2A) Unter statischen Bedingungen wurde ab 60 µg/ml nach 24h ein verringertes Zellwachstum beobachtet. Starke toxische Effekte, die zu Zelltod führen, wurden für die getesteten Konzentrationen nicht beobachtet.

2B) Es gibt keinen signifikanten Unterschied in der TNF-α induzierter Rekrutierung von Monozyten zwischen Kontrolle und SPION behandelten Zellen.

Ausblick

Magnetisches Targeting ermöglicht die gezielte Anreicherung von SPION unter annähernd physiologischen Flussbedingungen. Bisherige Ergebnisse sollen in einem ex vivo Nabelschnur-Flussmodell vertieft werden. Weiterhin ist es das Ziel magnetisches Drug Targeting mit bloßem Partikel, sowie Medikament gekoppelte Partikel, in vivo im Kaninchen zu testen.

Danksagung

DFG: CI 162/2-1, AL 552/5-1