

Nanopartiklers interaktion med lungesurfaktant

I forbindelse med indånding af visse nanopartikler kan naturlige overfladeaktive stoffer, lungesurfaktant, i lungens væskefilm påvirkes. Hvis lungesurfaktanten neutraliseres hurtigere end ny dannes, kan det medføre nedsat lungefunktion, og i værste fald give anledning til en livsfarlig sammenklapning af lungerne.

Af Jorid B. Sørli¹, Tashi Chhoden^{1,2}, Per A. Clausen¹, Jitka S. Hansen¹, Asger W. Nørgaard¹, Frants R. Lauritsen² og Søren T. Larsen¹

¹ Dansk Center for Nanosikkerhed, Det Nationale Forskningscenter for Arbejdsmiljø, København. ² Institut for Fysik, Kemi og Farmaci, Syddansk Universitet, Odense

I denne artikel ser vi nærmere på hvad lungesurfaktant er, hvornår interaktioner mellem nanomaterialer og surfaktant kan forekomme og hvordan sådanne interaktioner kan analyseres.

Hvad er lungesurfaktant?

Lungesurfaktant dækker den indre overflade af de yderste grene af luftvejene, alveolerne og de terminale bronkioler. Surfaktantens funktion er at nedsætte overfladespændingen af den væskefilm, som dækker lungen, og dermed sikre at lungerne ikke klapper sammen. Lungesurfaktant består primært af fosfolipider og surfaktantproteiner – en kombination som sætter surfaktanten i stand til at fungere i et dynamisk system. Under vejrtrækningen øges og reduceres lungens overflade, hvilket medfører at surfaktantfilmen skiftevis strækkes og komprimeres. Ved afslutning af en udånding opnår lungen en minimal overflade, dvs. tætheden af surfaktantmolekyler er maksimal. Den deraf følgende meget lave overfladespænding forhindrer, at alveolerne klapper sammen. Når lungen efter indånding er helt udspilet, er surfaktantfilmen strakt maksimalt og dens

overfladespændingsreducerende effekt dermed markant nedsat. Det medfører, at der skal en større kraft til at udvide alveolerne, hvilket igen er med til at forhindre overudspiling af alveolerne.

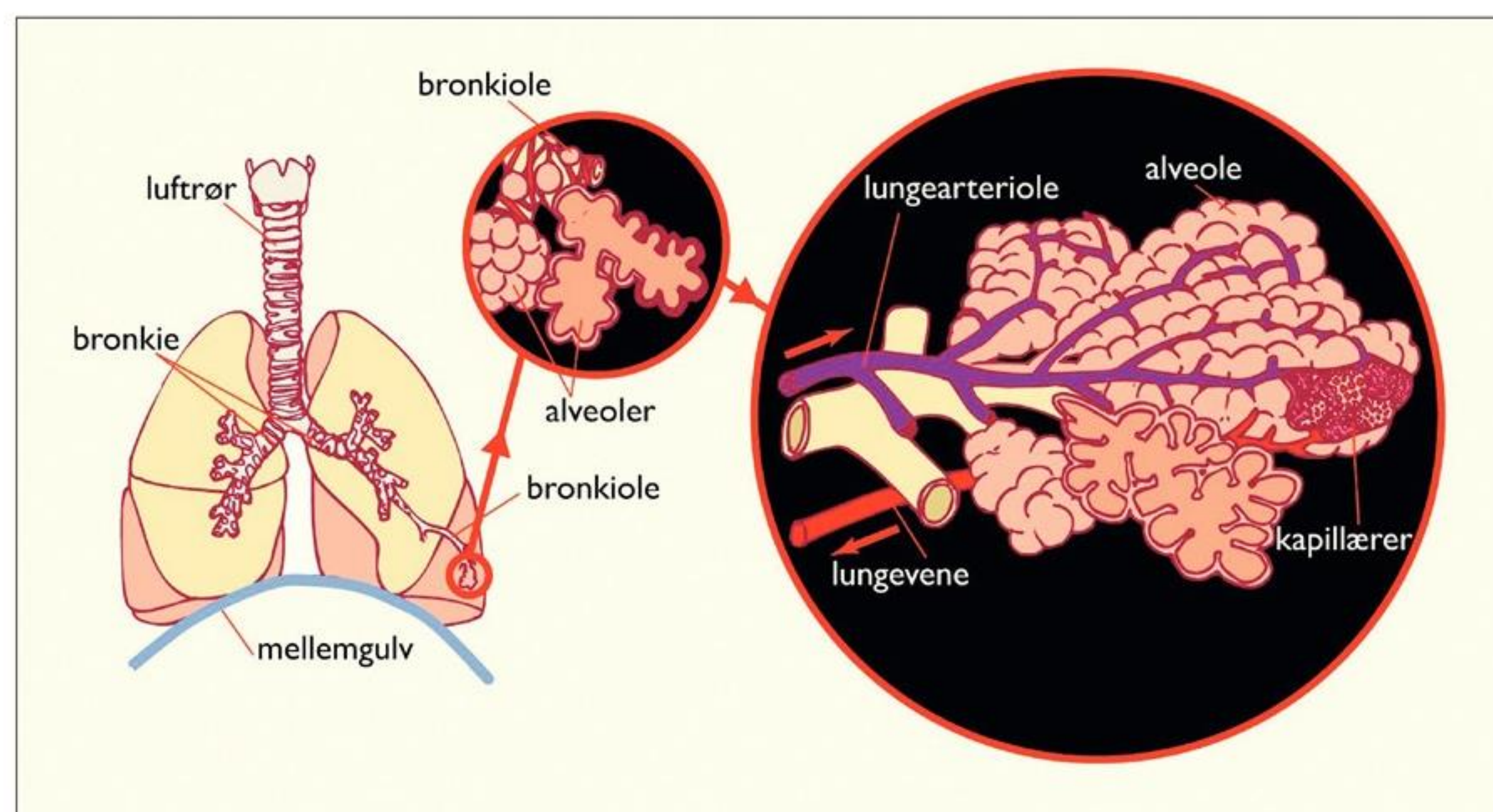
Lungesurfaktant er en helt vital del af lungerne, og en nedsat funktion af surfaktantlaget kan medføre besværet vejrtrækning og i alvorlige tilfælde livstruende lungekollaps. Mangelfuld dannelse af lungesurfaktant var tidligere den primære årsag til død blandt for tidligt fødte børn, men nu behandles tilstanden effektivt ved at tilføre surfaktantekstrakt fra f.eks. grise- eller kalvelunger.

Bestanddele i lungesurfaktant

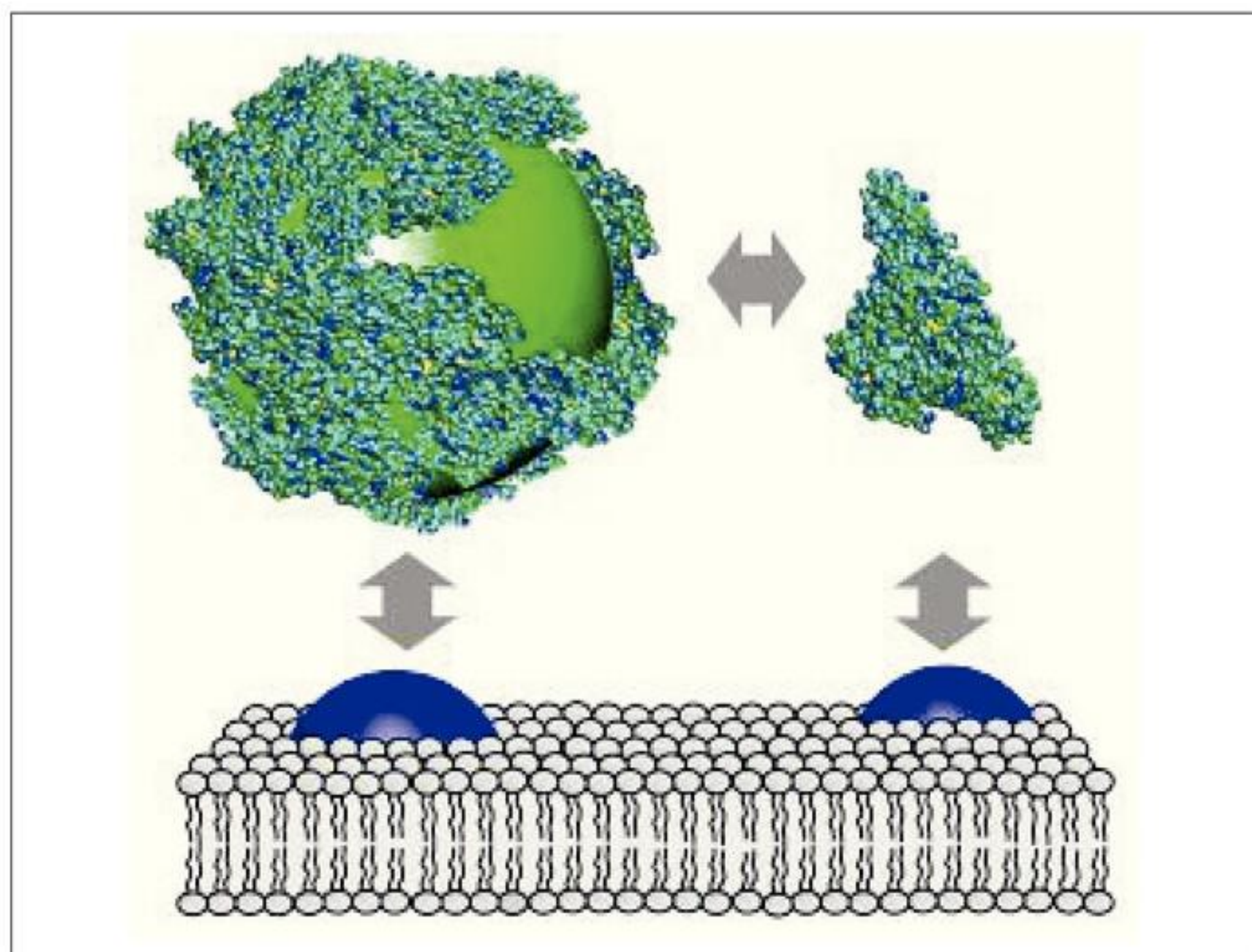
Lungesurfaktant er en kompleks blanding af forskellige fosfolipider, hydrofile og hydrofobe surfaktant-associerede proteiner og kolesterol. Den vigtigste overfladeaktive komponent er fosfolipidet dipalmitoylphosphatidylcholin (DPPC) samt de to hydrofobe surfaktantproteiner SP-B og SP-C, som er indlejret i fosfolipidfilmen. Proteinerne er afgørende for lungesurfaktantens dynamiske egenskaber.

Lungesurfaktantens interaktion med partikler og kemiske stoffer

Når indåndede partikler deponeres i lungen, kan de interagere fysisk med fosfolipid og protein som danner en såkaldt *corona* rundt om partiklen (figur 1). Derved kan de pågældende komponenters surfaktantegenskaber reduceres. Samtidig vil en *corona* ændre partiklens overflade, hvilket igen kan føre til ændrede toksikologiske egenskaber. Både store og små partikler giver anledning til coronadannelse, men da partiklernes specifikke overfladeareal (overfladeareal/masseenhed) stiger, når partiklerne bliver mindre, vil nanopartikler have en relativ stor overflade, som kan coates med surfaktanter. Nanopartikler kan således "neutralisere" en større mængde fosfolipid eller protein pr. vægtenhed sammenlignet med større partikler. Samtidig er nanopartikler så små, at en stor fraktion vil kunne transporteres med indåndingsluften helt ud i de yderste afsnit af lungerne – der hvor lungesurfaktanten befinder sig. Partiklernes fysisk-kemiske egenskaber, herunder hydrofilitet/lipofilitet og ladning, spiller sandsynligvis en rolle for, om og i givet fald, hvilke surfaktantkomponenter, der vil adsorberes til partikeloverfladen.



Illustrator: Carsten Valentin. Hentet fra Claus Estrup m.f.: Idræt C - teori i praksis - iBog®. Systime, 2013.



Figur 1. Proteincorona. Nanopartikel delvist dækket af protein, hvorved proteinets funktion kan ændres. Samtidig vil proteincoronaen ændre partikeloverfladen, således at f.eks. de toksiske egenskaber ændres.

Billedet er gengivet med tilladelse fra professor Nielhaus fra Karlsruhe Institute of Technology [http://www.kit.edu/visit/1838_450.php].

Måling af interaktion og dens konsekvenser

Da en interaktion mellem partikler og lungesurfaktant kan have helbredsmæssige konsekvenser, er vi interesserede i at finde ud af, hvilke stoffer og partikeltyper der kan interagere med surfaktantkomponenter, og undersøge hvilke fysiologiske konsekvenser en evt. interaktion kan have.

Kemisk analyse af materialer adsorberet til nanopartikler

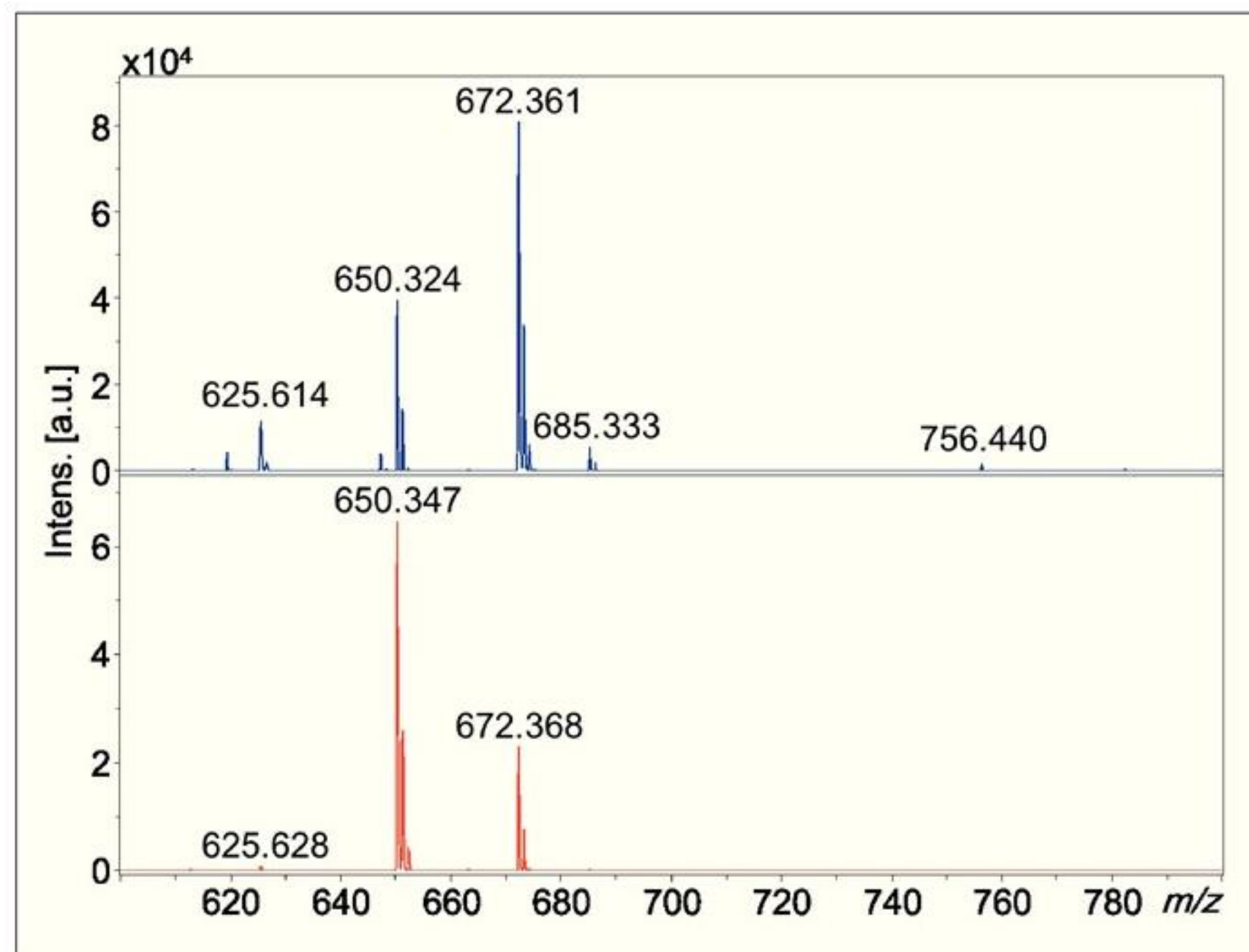
For at finde ud af hvilke surfaktantkomponenter der adsorberes til partikeloverfladen, benytter vi MALDI-TOF MS (Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation Time-Of-Flight Mass Spectrometry), som er velegnet til analyse af store molekyler som polymerer og proteiner/peptider i komplekse matricer. Således kan teknikken anvendes til at måle, hvilke organiske molekyler der er adsorberet til overfladen af nanopartikler, uden at nanopartiklerne interfererer med målingen. I vores undersøgelser er det netop de adsorberende egenskaber af forskellige fremstillede nanopartikler, der er af interesse.

Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation Time-Of-Flight MS

MALDI-TOF fungerer ved at beskyde matricemolekyler, som ofte er et benzosyrederivat, med en UV-laser i høj-vakuum. Herved ioniseres matricemolekylerne og ladning kan overføres til vores analyt, som så accelereres i et elektrisk felt og flyver igennem massespektrometrets analysator. Den tid, analyt-ionen er om at flyve igennem massespektrometret, er proportional med kvadratroden af ionens masse, heraf betegnelsen "Time-Of-Flight" (TOF).

Én af udfordringerne er at udvikle en metode, som gør det muligt at måle, hvor meget og hvordan forskellige surfaktantkomponenter binder til forskellige typer nanopartikler.

I et indledende forsøg blev surfaktant (præparatet Alveofact®) sat til en suspension af TiO_2 -nanopartikler, som efterfølgende blev spundet ned. Bundfaldet blev derefter analyseret med MALDI-TOF. Via analyse af supernatanten ved vi, at koncentrationen af DPPC i supernatanten reduceres efter tilsætning



Figur 2. MALDI-spektre af lungesurfaktantpræparatet Alveofact®. Analysen viser en ekstra top ved m/z 756, ved tilstedeværelsen af TiO_2 -nanopartikler (øverste spektrum), som ikke er der i kontrollen uden TiO_2 -nanopartikler (nederste spektrum). Denne top er natrium-adduktet af DPPC. Toppene ved m/z 650 og 672 er hhv. det protonerede molekyle og natrium-addukt af den interne standard PC(13:0/13:0); 1,2-didodecanoyl-sn-glycero-3-phosphocholin.

af nanopartiklerne. MALDI-spektret af bundfaldet (figur 2, øverst) viser en tydelig top ved m/z 756, når TiO_2 tilsættes. En top som ikke findes i kontrollen uden TiO_2 -nanopartikler (figur 2, nederst). Signalet ved m/z 756 er karakteristisk for natrium-adduktet $[M+\text{Na}]^+$ af DPPC, som er en af hovedkomponenterne i Alveofact®. Det ser således ud til, at vi kan udfælde nanopartikler med surfaktantkomponenter bundet til partiklen. Dog er reproducerbarheden i vores forsøg ikke tilfredsstillende, og der forestår således et større optimeringsarbejde af analysemetoden.

Måling af surfaktantfunktion

For at vurdere om en evt. interaktion mellem surfaktant og indåndede materialer kan have fysiologiske konsekvenser, kan man benytte sig af flere metoder til at måle surfaktantens funktionalitet under både statiske og dynamiske forhold. Et såkaldt *constrained drop surfactometer* (CDS) kan simulere de dynamiske forhold i alveolen. En lille dråbe lungesurfaktant deponeres i et lufttæt kammer, hvor atmosfæren kan kontrolleres, så den i videst mulig omfang afspejler miljøet i en alveole. Dråbens volumen varieres på en sådan måde, at man simulerer graden og frekvensen af overfladeændringen i alveolen. Samtidig er det muligt at tilslutte f.eks. en aerosolgenerator til CDS'en, således at man kan få (nano)partikler til at deponere på overfladen af "alveolen". Instrumentet måler overfladespændingen i *real-time* og giver derfor hurtigt et billede af, hvordan det indåndede stof påvirker surfaktantfunktionen i alveolerne. Vha. CDS-teknikken kan et stort antal nanomaterialer screenes og rangstilles ift. deres evne til at påvirke surfaktantfunktionen.

Håbet er, at studiet vil give ny viden om, hvilke fysisk-kemiske egenskaber der giver anledning til interaktion og deraf følgende påvirkning af surfaktantfunktion.

Forfatterne skylder en stor tak til Arbejds miljø forskningsfonden for økonomisk støtte.

E-mail

Søren Thor Larsen: stl@arbejdsmiljoforskning.dk