

Vas-oxid nanorészecskék tüdőtoxicitása

SZALAY BRIGITTA¹, BRÓZIK MÁRTA², ZUZANA KOVÁČIKOVA³, TÁTRAI ERZSÉBET¹, PÁNDICS TAMÁS¹

¹Országos Környezetegészségügyi Intézet, Toxikológiai Főosztály, Budapest

²Országos Reuma-és Fizioerpiás Intézet, Budapest,

³Slovak Medical University, Bratislava

Összefoglalás: Mint ismeretes, a fém-oxid nanorészecskék befolyásolhatják a tüdő morfológiáját, anyagcseréjét és immunreakcióit. A szerzők a vas-oxid nanorészecskéknek a tüdő morfológiájára, immunglobulin termelésére és kemokin expressziójára gyakorolt hatását vizsgálták *in vivo* és *in vitro* módszerekkel. Az *in vivo* vizsgálatok során a vas-oxid nanorészecskéket intratrachealis úton juttatták hím patkányokba. A tüdőt, az expozíció követő meghatározott időközönként, szövettani és biokémiai vizsgálatoknak vetették alá. A bronchusosó folyadékban és a vérben mérték az IgA, IgG és IgM szinteket. *In vitro* az alveoláris macrophagok és a II. típusú pneumocyták primer kultúráját vizsgálták lektinhisztokémiai módszerrel. A sejtenyészeteket vas-oxiddal kezelték, majd ELISA módszerrel meghatározták két kemokin, a macrophag inhibitory protein-1 α (MIP-1 α) és a macrophag chemoattractant protein-1 (MCP-1) expresszióját. Megállapították, hogy a vas nanopartikulumok az expozíció 4. hetének végére a tüdő krónikus intersticiális gyulladást okozzák, mérsékelt fibrózissal. Az IgA szintje szignifikánsan csökkent a vérben, de nem változott a bronchusosó folyadékban. Az IgG és az IgM a bronchusosó folyadékban csökkent, de nem mutatott változást a vérben. A MIP-1 α és az MCP-1 expressziója az alveoláris macrophagok és a II. típusú pneumocytákban emelkedett. Eredményeik a vas-oxid nanopartikulumok mérsékelt toxicitását jelzik, a tüdőszövetben mérsékelt intersticiális gyulladást, fibrózist és immunszuppressziót okozva.

Kulcsszavak: vas-oxid nanorészecske, tüdőtoxicitás, immunglobulinok, MIP-1 α , MCP-1

Egészségtudomány 53/1 (2009)

Közlésre érkezett: 2008. november 18-án

Elfogadva: 2008 december 17-én

SZALAY BRIGITTA

Országos Környezetegészségügyi Intézet

Budapest Gyáli út 2-6

Tel.: 30/431-1212

E-mail: brszalay@gmail.com

Bevezetés

Az elmúlt évtized folyamán a nanotechnológia fejlődésével egyre szélesebb körű alkalmazást nyertek a nanorészecskéket tartalmazó anyagok, ugyanakkor egészségre gyakorolt hatásuk vizsgálata is az érdeklődés középpontjába került (1, 2). A nanotechnológiai eljárások során előállított anyagok biztonságos felhasználásának jelentőségét az Európai Unió is megerősítette az európai nanotechnológiai stratégia (European strategy for nanotechnology, COM/2004/338) illetve az európai nanotudományi és nanotechnológiai cselekvési terv (Nanosciences and nanotechnologies: An action plan for Europe 2005-2009, /2005/243) létrehozásával. Mind a tervezetten előállított, mind pedig a nem tervezetten, melléktermékként keletkező nanoanyagok egyaránt veszélyt jelenthetnek a környezetre és az emberi egészségre. A nanoanyagoknak a nagyobb méretű formáktól való eltérő tulajdonságai, biológiai hatásai elsősorban a mérettel (1-100 nm) magyarázhatóak. A méret csökkenésével nő a tömegi fajlagos felület, amely egyértelmű összefüggésben áll a fokozott katalitikus aktivitással, reaktivitással, és ebből következően az élő szervezetben kialakuló hatással. A

nanoméretű részecskék expozíciója, transzlokációja és toxicitása jelentősen eltérhet ugyanazon anyag nagyszemcsés formáitól. Ennek fényében különös jelentőséggel bír a nanoszemcsés anyagok vizsgálata. A nanoszemcsés anyagok közül a fém oxidok egyre szélesebb körű alkalmazást nyernek az elektronikai ipar mellett a gyógyszeriparban, illetve a gyógyítás terén is.

A vas-oxid nanorészecskék több technológiai folyamat során tervezetten, illetve melléktermékként is keletkezhetnek, amelynek környezeti és munkahigiénés veszélyeit két tényező jelentheti. Egyrészt méretükből adódóan minden sejtmembránon áthatolnak, másrészt nagy adszorpciós felületük következtében különböző toxikus anyagokat köthetnek. Az expozíció során inhalációval, a bőrön és a gyomor-bél rendszeren át (3, 4, 5) bejutva a szervezetbe lerakódhatnak különböző szervekben, penetrálhatnak a sejtekbe. A respirábilis, 5-7 μm átmérőjű vasról ismert, hogy a tüdőbe jutva siderosist okoz, amely nem vezet tüdőfibrozishoz (6). A vas-oxid nanorészecskék tüdőre gyakorolt hatásainak vizsgálata csak részben történt meg. Egy in vivo tanulmány eredményei alapján a vas-oxid nanoszemcsék a véralvadási paramétereket szignifikánsan

befolyásolják (7). Ugyanakkor számos tanulmány igazolta az intravénásan adott nanoszemcsés vas-oxid ártalmatlanságát (8).

Célkitűzések

Tekintettel a nanoszemcsés vas-oxid belégzés útján történő expozíciójával kapcsolatos teljes körű vizsgálatok hiányára, a vas-oxid nanoméretű partikulumaival *in vivo* és *in vitro* vizsgálatokat végeztünk. Értékeljük a tüdőszövet morfológiai változásait, metabolizmusát és immunreakciót az expozíciót követően.

Módszerek

Az *in vivo* vizsgálatok során a vas háromértékű, 29 nm-es szemcseméretű oxidját intratracheálisan juttattuk be egy alkalommal hím Crl:CD(SD) patkányokba, 1-1 mg-ot adva fiziológiás konyhasóoldatban, dóziscsoportonként 5-5 állatnak. A kontroll csoport egyedének 1-1 ml fiziológiás konyhasóoldatot adtunk. Csoportonként öt patkány tüdejét különféle szövettani módszerekkel dolgoztuk fel az expozíciót követő 1., 7., 14., 28. napokon. A tüdőszövetet, fixálást követően, fénymikroszkópos módszerrel, hematoxilin-eosin festéssel, Gömöri ezüst impregnációval, van Gieson és Berlini kék reakcióval vizsgáltuk. Biokémiai vizsgálatok során a fentiek szerinti vas-

oxid kezelés mellett az 1. és a 4. hét végén, a tüdőszövet homogenizálását és centrifugálását (10.000 rpm, 30 perc) követően meghatároztuk a glutathion koncentrációt, GSH redukáz módszerrel (9). A Cu, Zn-dizmutáz (EC-SOD) aktivitását Redox kittel (Randox Laboratories Ltd, UK) értékeltük, ennek során a xantin és xantin-oxidáz szuperoxid által termelt gyökök 2-(4-jodofenil)-3-(4-nitrofenol)-5-fenilterazolium-kloriddal színes terméket (formazán) képeznek, amely fotometriás módszerrel 412 nm-en mérhető (10). Immunológiai vizsgálataink során, a vas-oxid expozíciót követő 1., 3., 7. és 14. napokon, csoportonként 5-5 állatot vizsgálva, proteáz inhibitor (Fenilmetilszulfonil-fluorid) tartalmú fiziológiás NaCl oldattal nyert bronchusmosó folyadékot és vért ELISA módszerrel dolgoztuk fel az immunglobulinok (IgA, IgG, IgM) koncentrációjának meghatározása céljából, „serotec” (Kidlington, Oxford, UK) poliklonális antitesteket felhasználva.

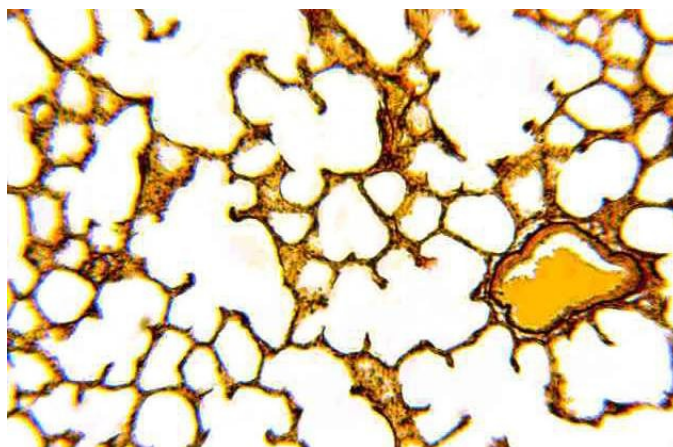
Az *in vitro* vizsgálatok során a sejtenyészeteket különböző koncentrációjú (1, 5 és 10 µg/ml, 20 h) vas-oxid nanorészecskével exponáltuk. Az alveoláris macrophagok és a II. típusú pneumocytaikat lektin-hisztokémiai technikával vizsgáltuk, amely során a 4%-os formalinban (pH 7,4) történő fixálást

követően biotinilált lektinokkal inkubáltuk ($20\mu\text{g ml}^{-1}$, Sigma, USA). A *Maclura pomifera* agglutinin (MPA, Sigma) a II. típusú pneumocytá membrán terminális α -D-galaktóz/galaktózamin, a *Bandeiraea simplicifolia* agglutinin (BSA, Sigma) az alveoláris macrophag membrán N-acetil- α -D-galaktózamin szekvenciájára specifikus. A sejteket, ezt követően streptavidin-biotin-peroxidáz komplexszel (Sigma, USA) 1:200 hígításban 30 percig inkubáltuk, majd 3-3'-diaminobenzidin-4HCl(DAB)- H_2O_2 oldattal kezeltük. A lektin specificitás ellenőrzése céljából a sejteket 0.1 M hapténnal előinkubáltuk, majd biotinilált lektinnel, haptén jelenlétében inkubáltuk. Immunológiai vizsgálataink során a sejtenyészetek felülűszójából MIP-1 α (Macrophage inflammatory protein *1 alpha*) és MCP-1

(Monocyte chemotactic protein-1) kemokin meghatározásokat végeztünk ELISA módszer segítségével. Az MCP-1 epitóp kimutatásához monoklonális antitesteket (PharMingen Cat. No.14011D) és biotinilált antitesteket (PharMingen Cat. No.24022D) használtunk. A MIP-1 α kimutatásához rekombináns antitesteket (Serotec PRP22) és biotinilált antitesteket alkalmaztunk (ABD Serotec AAR30B).

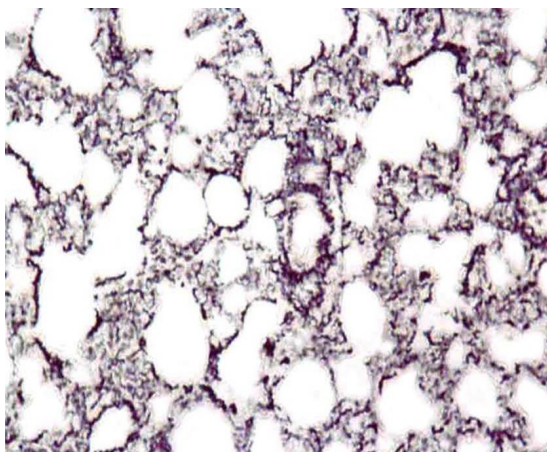
Eredmények

Az *1.ábrán* a kontroll tüdőt mutató képek láthatók az elasztikus rostokat festő specifikus festéssel (*1A*) és a Gömöri-féle ezüstimpregnációs festéssel (*1B*). Mindkettő mutatja a tüdő jellegzetes szerkezetét: szabályos, nyitott alveolusok láthatók. Az interalveoláris szeptumokban elasztikus és kollagén rostok szabályos hálózata mutatható ki.



1A. ábra Kontroll patkány tüdő, van Gieson-elastica festés

Fig. 1A. Control rat lung, van Gieson-elastica staining

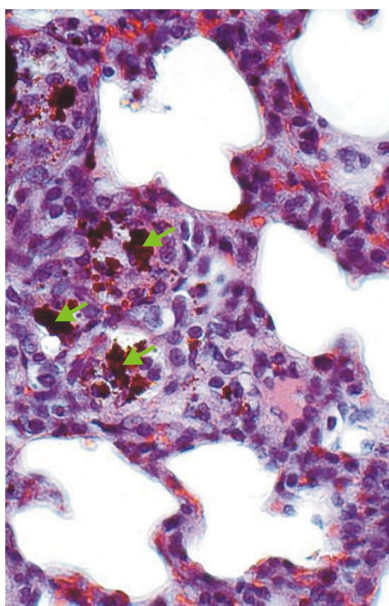


1B. ábra: *Kontroll patkány tüdő, Gömöri festés*

Fig. 1B.: *Control rat lung, Gömöri staining*

A vas-oxiddal történő kezelés hatására az erekben (és tüdőszövetben is) már az első napon kimutatható a finom vaspor megjelenése (nyilakkal jelölve a 2. ábrán), az első hét végére pedig kifejezett

intersticiális gyulladás is látható. A vasmentes területeken a kiszélesedett alveoláris sövényekben akut gyulladás jelei detektálhatók (leukocyták, macrophagok) (2. ábra).

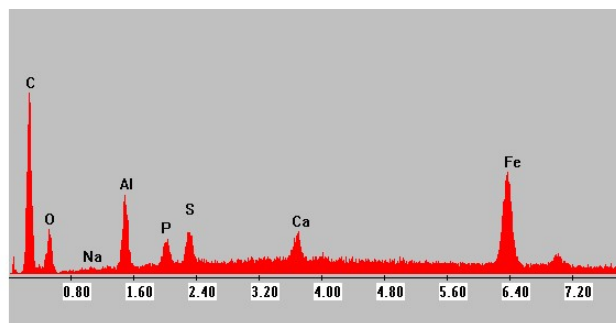
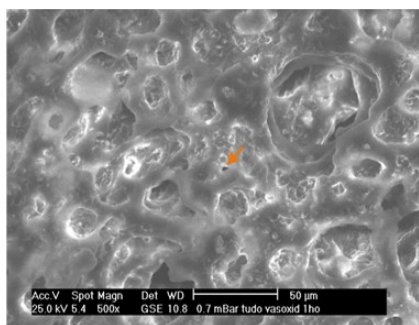


2.ábra: *Vas-oxid nanorészecskével kezelt patkány tüdő, egy héttel az expozíció után, Hematoxilin-Eosin festés*

Fig .2.: *Rat lung 1 week after nano-sized ferric oxide exposure, hematoxilin-eosin staining*

Pásztázó elektronmikroszkóppal végzett vizsgálat során is jól megfigyelhető a különbség a kontroll és a kezelt állatok tüdeje között. A 3A. ábrán a kezelt állat

tüdejében jól láthatók a vasszemcsék, amelyet az elemanalízis megerősít, jól látható Fe csúccsal (3B. ábra).



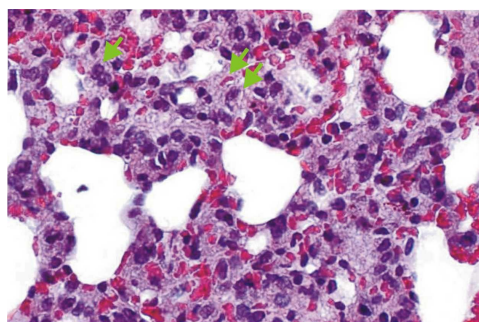
3B. ábra: A vas-oxid nanorészecskével kezelt patkány tüdő SEM-EDAX analízise, 4 héttel az expozíció után

Fig. 3B.: Rat lung 4 weeks after nano-sized ferric oxide exposure, SEM-EDAX analysis

Az első hónap végére (4. ábra) ez a gyulladás perzisztált. Az idült gyulladás sejtes elemei (macrophagok, limfocyták és fibroblastok, plasmasejtes infiltrációval)

láthatók, ezen kívül az alveoláris sövények jelentős kiszélesedése figyelhető meg.

A redox rendszer vizsgálata során nem találtunk szignifikáns eltérést a glutathion és az EC-SOD koncentrációjában.

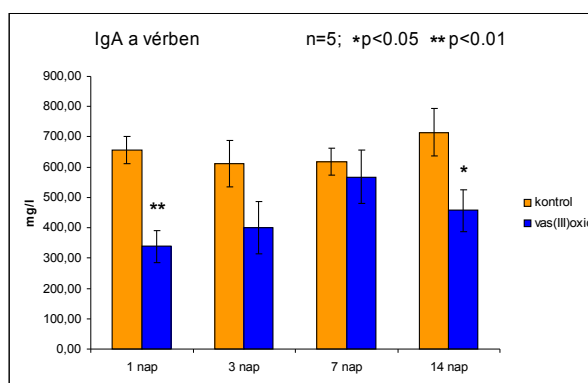


4. ábra: Vas-oxid nanorészecskével kezelt (1 hónap) patkány tüdő Hematoxin-Eosin festés, 4 héttel az expozíció után

Fig .4.: Rat lung 4 weeks after nano-sized ferric oxide exposure, Hematoxin-Eosin staining

Immunológiai vizsgálataink során a bronchusmosó folyadék (BAL), illetve a vér vizsgálatának eredményei alapján az *IgA a vérben* a 2. hét végére szignifikánsan

csökkent. Bár a 7. napon a kontrollhoz képesti csökkenés nem volt jelentős, de ismét szignifikáns volt a 14. napon (5. ábra).



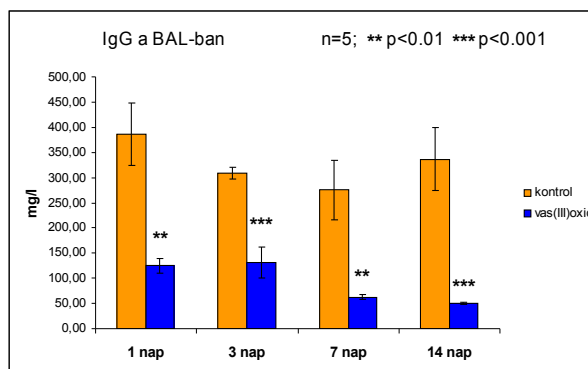
5.ábra: *IgA értékek a vérben a nanoszemcsés vas-oxid kezelést követően különböző időpontban mérve.*

Fig.5.: *IgA levels in the whole blood at different times after nano-sized ferric oxide treatments.*

IgA a vérben: IgA in blood
kontroll: control, vas oxid: ferric oxide
nap: day

A bronchusmosó folyadékban az *IgA* szintjében változás nem történt. A perifériás hörgőágak immunglobulinjai: az *IgG és IgM* a bronchusmosó folyadékban szemben a vérben látottakkal, ahol

semmilyen változás nem volt megfigyelhető, csaknem minden időpontban szignifikánsan csökkentek (6A és B ábra).

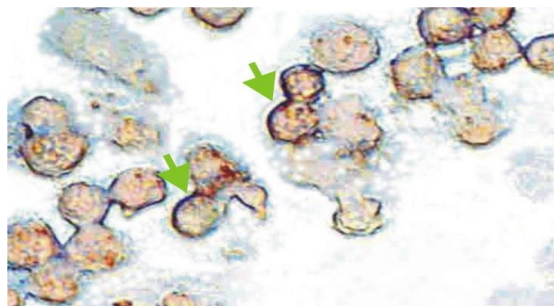


6A. ábra: *IgG koncentrációk a bronchusmosó folyadékban a nanoszemcsés vas-oxid kezelést követően különböző időközönként mérve*

Fig.6A.: *IgG levels in BAL at different times after nano-sized ferric oxide treatment*

Az in vitro lektin-hisztokémia vizsgálatok során a képen látható módon kontroll

sejtek membránjainak kontúrja éles, jelezvén a sejtek épségét (7. ábra).



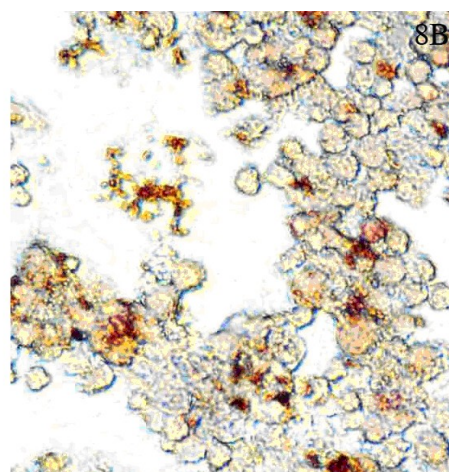
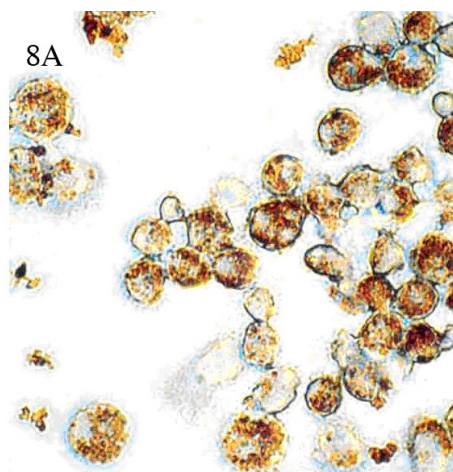
7. ábra: *Kontroll alveoláris macrophagok*
(a nyilak a sejtmembránokra mutatnak)

Fig.7.: *Control alveolar macrophages*
(the arrows point on the cellmembranes)

A ferrioxid nanorészecskékkel történő kezelések hatására, csupán a legmagasabb 10 µg/ml koncentrációnál sérültek a sejtek membránjai.

A II. típusú pneumocyták (8B. ábra) esetében a vas a sejtek felszínére rakódott,

míg az alveoláris macrophagok (8A. ábra) fagocytálták a vasszemcséket. Mind a macrophagoknál, mind a pneumocytáknál megfigyelhető, hogy a sejtmembrán vagy részlegesen, vagy egyáltalán nem festődik.

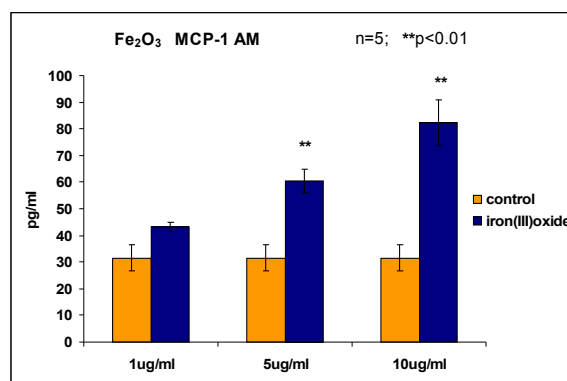


8. ábra: *10µg/ml vas-oxid nanorészecskével exponált alveoláris macrophag (A) és II típusú pneumocyta (B) sejtkulturák, BSA-val és MPA-val jelölve.*

Fig.8.: *Primary culture of alveolar macrophages and pneumocytes type II stained with BSA and MPA at 10µg/ml ferric oxide treatment, alveolar macrophages (A) and pneumocytes type II (B)*

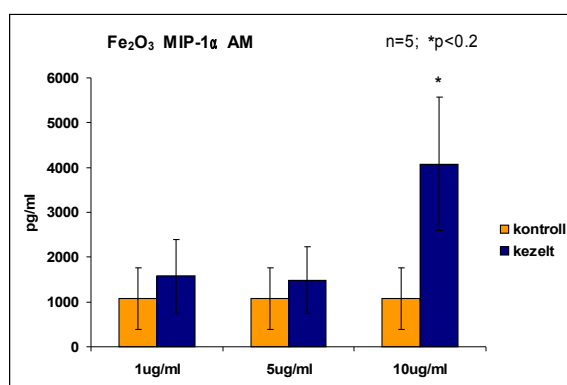
A kemokinek vizsgálata során a ferrioxid nanopartikulumok szignifikánsan növelték

az MCP-1 és a MIP-1α expresszióját az alveoláris macrophagokban (9A, B ábrák).



9A. ábra: MCP-1 az alveoláris macrophagokban: az 5 és 10 µg/ml koncentrációjú vas-oxiddal való kezelés esetén szignifikánsan nő.

Fig. A.: MCP-1 values in alveolar macrophages after 5 and 10 µg/ml ferric oxide exposure

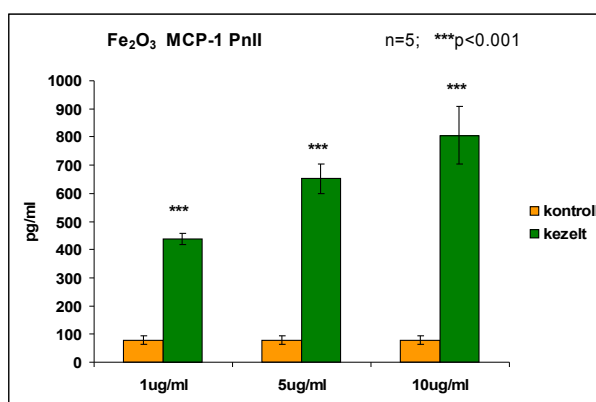


9B. ábra: MIP-1α az alveoláris macrophagokban: kisebb koncentrációk-nál nem történt változás, a 10µg/ml esetében pedig 4X nőtt.

Fig. 9B.: MIP-1α values in alveolar macrophages after 10 µg/ml ferric oxide exposure

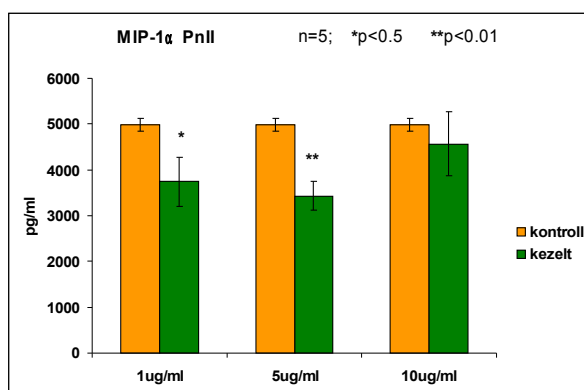
A pneumocytákban szintén szignifikáns növekedést tapasztaltunk az MCP-1 szintjében (10A ábra), míg a MIP-1α

expressziójában lényegi változást nem tapasztaltunk (10B ábra).



10A. ábra: MCP-1 termelés II típusú pneumocytákban 1, 5 és 10 µg/ml vas-oxid kezelést követően

Fig .10A.: *MCP-1 production in primary culture of type II pneumocytes after treatment with 1, 5, and 10 $\mu\text{g ml}^{-1}$ of iron oxide.*



10B. ábra: *MIP-1 α termelés II típusú pneumocytákban 1, 5 és 10 $\mu\text{g/ml}$ vas-oxid kezelést követően*

Fig .10B.: *MIP-1 α production in primary culture of type II pneumocytes after treatment with 1, 5, and 10 $\mu\text{g ml}^{-1}$ of iron oxide.*

Megbeszélés

Tanulmányunk során in vivo és in vitro módszerekkel vizsgáltuk a vas-oxid nanorészecskéknek a tüdő morfológiájára, immunglobulin termelődésére és kemokin expressziójára gyakorolt hatását. Az in vivo vizsgálatok során akut gyulladás jeleit találtuk, amely későbbiekben mérsékelt krónikus interstitialis gyulladásba ment át. Ennek hátterében felmerül a vas-oxid nanoméretre jellemző igen nagy fajlagos tömegi felszín, amely jelentősen növeli a katalitikus aktivitást (11). A redox rendszer vizsgálata során mért változatlan glutathion és EC-SOD koncentráció felveti annak lehetőségét, hogy az alkalmazott nanoméretű vas-oxid nem jutott be az intracelluláris térbe, mivel a nanoméretű részecskék csak egy bizonyos mérethatár alatt tudnak oda bejutni. A pneumocyták és

az alveoláris macrophagok membránkárosodása, amelyhez kapcsolódóan kimutatható a stuktúrális oligoszacharidok károsodása is, a vas-oxid cytotoxicitásával magyarázható. Az alveoláris epithelium szabályozó szerepet tölt be a gyulladás és az immunreakció terén, így az általuk termelt MCP-1 és a MIP-1 α kulcsszerepet játszhat az alveoláris macrophagok és a monocyták aktiválásában. Az alveoláris epithel sejtek befolyásolhatják az alveoláris macrophagok koncentrációját és aktivációs állapotát, és ezen keresztül a gyulladás kialakulását (12). A bronchusmosó folyadék csökkent IgG és IgM koncentrációja hozzájárulhat a kialakuló krónikus interstitiális gyulladáshoz.

Összefoglalva megállapítható, hogy a vas-oxid nanopartikulumok a tüdő

interstitiális gyulladást (pneumonitist) okozzák, szemben a – respirábilis vasvegyületekkel, amelyek a tüdőben sziderózist okoznak, fibrózis nélkül – ezért inert poroknak tekintjük őket. Immunszuppresszív hatásuk az egyes immunglobulinok koncentrációjának csökkenésében jelentkezik, amely konvergál a szöveti képpel, mivel az interstitiális gyulladás a perifériás légutakat érinti. Meglepő módon a redoxrendszer két fontos összetevője (glutathion és EC-SOD) nem változott, ami arra ösztönöz bennünket, hogy kiegészítő in vitro vizsgálatokkal tanulmányozzuk az egyes sejtek aktivitását. Ugyanis előfordulhat, hogy magasabb szinten az egyébként nem reagáló sejtek növelik az aktivitási szintet, amelyre már a NiO-val végzett kísérleteink során is fény derült (13). A vasoxid

nanopartikulumok a kemokinek expresszióját, az általunk vizsgált kemokinek esetében növelték, kivéve a pneumocyták MIP-1 α koncentrációját.

Következtetés

Vizsgálatunk eredményei igazolják a jelentős különbséget a nanoméretű és a nanoméret feletti vas-oxid eltérő hatását elsősorban a tüdőszövetben kialakult gyulladás és az immunszuppresszió tekintetében. A redox rendszerben változást nem találtunk, feltehetően a nanoszemcsék nem jutottak be az intracelluláris térbe, így azok hatását sem tudtuk detektálni, amely arra ösztönöz minket, hogy vagy kisebb szemcsemérettel, vagy megfelelő bevonatú vas-oxid nanoszemcsével a redox rendszerre vonatkozó kísérleteinket megismételjük.

Köszönetnyilvánítás

A munkát a Magyar Kutatási és Fejlesztési Alapítvány (NKFP-1B047) és az Országos Tudományos és Kutatási Alapprogram (OTKA T46773) támogatták. A szerzők köszönetet mondanak Király Lászlóné és Pálinkás Éva magas színvonalú technikai munkájáért.

IRODALOM

1. *Scenihhr*: Opinion on methodology in accordance with the technical guidance documents for new and existing substances for assessing the risks of nanomaterials, 19th plenary on 21-22 June 2007, European Commission, Health and Consumer Protection Directorate-General, Brüsszel, 2007, 14-44
2. Donaldson, K., Stone, V., Tran, C. L. et al.: Nanotoxicology *Occup Environ Med* 2004. 61. 727-728.
3. Oberdörster, G., Oberdörster, E., Oberdörster, J.: Nanotoxicology: An emerging discipline evolving from studied of ultra fine particles *Environ Health Perspect*, 2005, 113, 823-839.
4. Geiser, M., Rothen-Rutishauser, B., Kapp, N. et al.: Ultra fine particles cross cellular membranes by nanophagocytic mechanisms in lungs and in cultured cells *Environ. Health Perspect*, 2005, 113, 1555-1560.
5. Gojova, A., Guo, B., Kota, R. S. et al.: Induction of inflammation in vascular endothelial cells by metal oxide. Nanoparticles: effect of particle composition *Environ Health Perspect*, 2007, 115. 403-409.
6. Parkes W. R.: Inert dusts. In: *Occupational Lung Disorders*, Butterworths, London-Boston-Sydney-Wellington-Durban-Toronto. 1982. pp.113-133.
7. Zhu, M.T., Feng, W.Y., Wang, B. et al.: Comparative study of pulmonary responses to nano- and submicron-sized ferric oxide in rats *Toxicology*, 2008, 247 (2-3), 102-111.
8. Muldoon, L. L., Manninger, S., Pinkston, K. E. et al.: Imaging, distribution and toxicity of iron oxide magnetic resonance agents in rat brain and intracerebral tumor. *Neurosurgery*, 2005, 57, 785-95.
9. Anderson, M.E.: Determination of glutathione and glutathione disulphide in biological samples. *Methods Enzymol*, 1985, 113, 31-39.
10. Fridovich, I.: Superoxide dismutases. *Adv. Enzymol.* 1986, 58, 61- 97.
11. Li, P., Miser, D.E., Rabiei, S. et al.: The removal of carbon monoxide by iron oxide nanoparticles. *Applied Catalysis B: Environmental*, 2003, 2 (43), 151-162.
12. Prokhorova, S., Patel, N., and Laskin, D. L.: Regulation of alveolar macrophage and type II cell DNA synthesis: effects of ozone inhalation. 1998, *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 275, 1200-1207
13. Tátrai, E., Kováčiková, Z., Brózik, M. et al.: The effect of nickel oxide on the morphology and detoxification of the lungs. *British Association for Lung Research, Summer Meeting*, 13-15, Sept, 2004

BRIGITTA SZALAY, ZUZANA KOVÁČIKOVÁ, MÁRTA BRÓZIKB, TAMÁS PÁNDICS, ERZSÉBET TÁTRAI

National Institute of Environmental Health, Budapest, Hungary,

Slovakian Medical University^a, Bratislava, Slovakia

National Institute of Rheumatology and Physiotherapy^b, Budapest, Hungary

Effects of nano-sized ferric oxide on pulmonary morphology, redox system, production of immunoglobulines and chemikones in rats

BRIGITTA SZALAY

National Institute of Environmental Health

Budapest Gyáli ut 2-6

tel.: 30/431-1212

e-mail: brszalay@gmail.com

Abstract: Nano-sized iron oxide has recently been hypothesized to change pulmonary morphology, metabolism, and immunological reactions. The aim of the study was the determination of the effect of iron oxide nanoparticles on pulmonary morphology, redox system, production of immunoglobulins and chemokines based on single intratracheal instillation in male SPRD rats. Histology of the lungs and their regional lymph nodes was examined after iron (III) oxide exposure. IgA, IgG and IgM were determined in bronchoalveolar lavage (BAL) and the whole blood by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Total glutathione (GSH) and extracellular superoxide dismutase (EC-SOD) were measured after one week and one month of exposure. In addition, the primary culture of alveolar macrophages and type II alveolar epithelial cells was exposed with iron oxide (average particle size: 29nm) for determination of LC50. The cell membranes were studied by lectin histochemistry. The expression of macrophage inhibitory protein-1 α (MIP-1 α) and macrophage chemoattractant protein-1 (MCP-1) was determined from the supernatant of primary culture of these cells. Iron oxide caused interstitial pulmonary inflammation with moderate fibrosis by the end of the 4th postexposure week. IgA decreased significantly in the whole blood, but not in bronchoalveolar lavage. IgG and IgM significantly decreased in BAL, whereas they were unchanged in blood. The expression of MCP-1 and MIP-1 α in alveolar macrophages and pneumocytes type II increased significantly. These results show that iron oxide nanoparticles caused mild pulmonary toxicity: they induced moderate interstitial inflammation and fibrosis furthermore immunosuppression of immunoglobulins examined.

Keywords: ferric oxide nanoparticles, pulmonal toxicity, immunoglobulin, MIP-1 α , MCP-1
