



Fraunhofer
ITEM

FRAUNHOFER-INSTITUT FÜR TOXIKOLOGIE UND EXPERIMENTELLE MEDIZIN ITEM

**JAHRESBERICHT
ANNUAL REPORT
2010**



30 Jahre
im Auftrag der Zukunft.

FRAUNHOFER-INSTITUT FÜR TOXIKOLOGIE UND EXPERIMENTELLE MEDIZIN ITEM

LEISTUNGEN UND ERGEBNISSE

JAHRESBERICHT 2010

Den englischsprachigen Teil des Jahresberichts finden Sie ab Seite 85. Die Rubrik »Namen, Daten, Ereignisse« beginnt in deutsch-englischer Version ab Seite 168.

For the English part of this Annual Report, please refer to page 85. The chapter "Names, Dates, Events" in both German and English begins on page 168.

INHALT

Vorwort	4
Das Institut im Profil	6
Themen	6
GXP – Qualität auf höchstem Niveau	8
Forschungs- und Dienstleistungsangebot	9
Kunden	11
Zukunftsfelder	12
Ausstattung	13
Kuratorium	15
Meldungen 2010	16
Mitarbeiterentwicklung	18
Betriebshaushalt	19
Organigramm Fraunhofer ITEM	20
GESCHÄFTSFELD 1	
Pharmaforschung und -entwicklung, Medizinische Biotechnologie und Molekulare Medizin	22
Ausblick	
Präklinische Tests im 21. Jahrhundert	26
Projektberichte	
Entwicklung einer präklinischen Teststrategie für innovative inhalative Biopharmazeutika	30
Charakterisierung DNA-alkylierender Substanzen durch MALDI-TOF-Massenspektrometrie	34
Vorlaufforschung	
Nachweis lokaler Gentoxizität in der Lunge	38
Projektübersicht	41
GESCHÄFTSFELD 2	
Klinische Atemwegsforschung	42
Projektberichte	
Exhalierte Partikel für die Diagnostik und Verlaufskontrolle von Lungenerkrankungen	46
Surfactant-Protein D als Biomarker	49
Vorlaufforschung	
EU-Projekt EvA: Emphysem versus Atemwegserkrankung	52
SMart Nose®: eine elektronische Nase analysiert die Ausatemluft	53
Zelltherapie bei Asthma	54
Projektübersicht	55

GESCHÄFTSFELD 3	
Gewerbe-, Umwelttoxikologie und Verbraucherschutz	56
Projektberichte	
Nanomaterialien auf dem Prüfstand	60
Ableitung von Grenzwerten bei Inhalation	62
Lokale Gentoxizität in der Lunge	64
Projektübersicht	67
GESCHÄFTSFELD 4	
Prüfung und Registrierung von Chemikalien, Bioziden und Pflanzenschutzmitteln	70
Projektberichte	
REACH: Registrierungen in der Praxis	74
Zulassung von Biozidprodukten: neue Herausforderungen für die Antragsteller	76
Projektübersicht	78
Fraunhofer-Gesellschaft	80
Fraunhofer-Verbund Life Sciences	82
ANNUAL REPORT 2010	85
Namen, Daten, Ereignisse	168
Publikationen	168
Promotionen	171
Diplomarbeiten	172
Bachelorarbeiten	173
Vorsitz auf Kongressen und Tagungen	174
Geladene Vorträge auf Kongressen und Tagungen	175
Beiträge zu Kongressen und Tagungen	177
Mitarbeit in Gremien	182
Forschungsprojekte	186
Kooperationen mit Institutionen und Hochschulen	188
Gastwissenschaftler	190
Messen, Kongresse und Seminare	191

VORWORT



Liebe Leserinnen und Leser,

die Gesundheitsforschung nimmt einen breiten Raum der Arbeiten des Fraunhofer ITEM ein, und mit dem Bau des Hannover Center for Translational Medicine (HCTM), der in diesem Jahr beginnt, wird die Infrastruktur für die Durchführung von frühen klinischen Studien auf höchstem internationalen Niveau geschaffen. Durch die kooperative Nutzung dieses Zentrums für medizinische Translationsforschung mit der Medizinischen Hochschule Hannover und dem Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung erhält das HCTM zukunftsweisenden Charakter in der Forschungslandschaft Deutschlands. Die feierliche Grundsteinlegung wird am 5. Mai dieses Jahres erfolgen. Ein guter Anlass, an diesem Tage auch das 30-jährige Bestehen des Fraunhofer ITEM mit seinen Freunden, Förderern, Kunden und Mitarbeitern zu feiern.

Im vergangenen Jahr wurde auch der Weg bereitet für die Teilnahme an zwei neuen deutschen Zentren der Gesundheitsforschung. Die Bundesregierung hat noch im Dezember 2010 das »Rahmenprogramm Gesundheitsforschung« auf den Weg gebracht und damit die Einrichtung von sechs nationalen Gesundheitszentren, die sich mit großen Volkskrankheiten wie Diabetes, neurodegenerativen Erkrankungen, Krebs, Herz-Kreislauf- und Lungenerkrankungen sowie Infektionskrankheiten beschäftigen werden. Primäres Ziel dieser Gesundheitszentren – die ausgewiesene universitäre und außeruniversitäre Forschungseinrichtungen zusammenbringen – ist die Translation von Forschungsergebnissen in erfolgreiche neue Therapien. Das ITEM wird Mitglied in dem Gesundheitszentrum für Lungenkrankheiten sein und über das HCTM bringt es sich außerdem in dem Gesundheitszentrum für Infektionskrankheiten ein.

Damit erfährt die über 30 Jahre im Fraunhofer ITEM aufgebaute Expertise in der toxikologischen und pharmakologischen Wirkungsforschung in der Lunge eine Verstärkung auf dem Gebiet der Entwicklung neuer therapeutischer Produkte und Technologien zur Behandlung von Lungenerkrankheiten.

Seit 10 Jahren werden am Fraunhofer ITEM frühe klinische Studien durchgeführt, und das Institut ist damit in der Lage, den »Proof of Concept in Man« für neue Medikamente gegen entzündliche und allergische Erkrankungen des Respirationstraktes zu erbringen. Der in der Pharmaforschung und -entwicklung aus verschiedenen Gründen kritische Übergang von der präklinischen zur klinischen Entwicklung ist ein sehr intensiver Forschungsbereich des ITEM. Wie können die Modellsysteme der Präklinik in ihrer Prädiktivität bezüglich Verträglichkeit und Wirksamkeit



neuer Medikamente für den Zielorganismus Mensch verbessert werden, und wie kann also die Erfolgswahrscheinlichkeit von neuen Produktentwicklungen in der frühen klinischen Testung erhöht werden?

Das endgültige Ziel der medizinischen Translationsforschung ist der Nachweis der Wirksamkeit und der Verträglichkeit eines Medikamentenkandidaten beim Patienten. Auch wenn die Probandenzahlen für solche frühen klinischen Studien nicht sehr hoch sind, können diese Studien nur dann durchgeführt werden, wenn eine nach dem Arzneimittelgesetz und unter zertifizierten GMP-Bedingungen (»Good Manufacturing Practice«) hergestellte klinische Prüfware vorliegt. Gerade bei rekombinant hergestellten Biopharmazeutika ist die Entwicklung des Herstellungsprozesses und die anschließende GMP-Produktion aber meist sehr aufwändig, und die Translation kommt häufig an diesem Punkt der Pharmaentwicklung – besonders bei öffentlich geförderten Forschungsarbeiten, bei Ausgründungen sowie kleinen und mittleren Pharma- und Biotechfirmen – ganz erheblich ins Stocken oder sogar zum Abbruch. Hier bietet das Fraunhofer ITEM mit seiner pharmazeutischen Biotechnologie sowohl die fachliche Kompetenz für die Entwicklung des Herstellungsprozesses als auch die Ausstattung und Expertise, die klinische Prüfware nach GMP-Bedingungen herzustellen, testspezifisch abzufüllen und für die klinische Prüfung freizugeben.

Damit ist das Fraunhofer ITEM für alle Phasen der Pharmaforschung und Pharmaentwicklung sowohl ein kompetenter Forschungspartner für gemeinsame Entwicklungsprojekte als auch ein Dienstleister für gezielte Auftragsforschungsarbeiten. Einen Überblick über unser Themenspektrum und einige Beispiele aus der aktuellen Forschung finden Sie in dem vorliegenden Jahresbericht 2010.

Unsere Erfolge wären nicht möglich gewesen ohne das Engagement der Mitarbeiter, der Kuratoren, Förderer und Kunden – Ihnen allen danke ich herzlich und freue mich auf eine weitere gute Zusammenarbeit.

A handwritten signature in black ink, appearing to read "I. Heinrich".

Prof. Dr. Dr. Uwe Heinrich
Geschäftsführender Institutsleiter



**30 Jahre
im Auftrag der Zukunft.**

DAS INSTITUT IM PROFIL

THEMEN

Den Menschen in unserer industrialisierten Welt vor gesundheitlicher Gefährdung zu schützen und an der Entwicklung neuer therapeutischer Ansätze mitzuwirken – das sind die Ziele des Fraunhofer-Instituts für Toxikologie und experimentelle Medizin ITEM. Einen Schwerpunkt bildet die Atemwegsforschung: Über die Lunge werden unzählige luftgetragene Substanzen – Schadstoffe und auch Arzneimittel – aufgenommen. Gemeinsam mit unseren Kunden aus Industrie und Behörden entwickeln und prüfen wir neue Medikamente gegen Atemwegserkrankungen – insbesondere gegen Asthma, Heuschnupfen und chronische Bronchitis –, erforschen Wirkmechanismen und ermitteln die Risiken von potenziellen Schadstoffen. Ein breites Spektrum an Kompetenzen ermöglicht es uns, Komplettlösungen anzubieten – von der Idee bis hin zum Produkt.

Im Fokus: Lunge und Atemwege

Der Respirationstrakt spielt bei den Untersuchungen am Fraunhofer ITEM eine zentrale Rolle. In *In-vitro*- und *In-vivo*-Modellen werden vornehmlich Stoffe untersucht, die inhalativ aufgenommen werden. Dazu gehören sowohl einzelne Komponenten, wie Faserstäube oder ultrafeine Partikel und Nanopartikel, als auch komplexe Gemische, die am Arbeitsplatz oder in der Umwelt entstehen, zum Beispiel Automobilabgase oder Kokerei- und Bitumendämpfe.

Medikamente prüfen und entwickeln

Für entzündliche und allergische Erkrankungen bietet das Fraunhofer ITEM Forschungs- und Entwicklungsarbeiten vom Molekül bis hin zur klinischen Prüfung an. Mit Zell- und molekulärbiologischen Methoden werden neue Zielstrukturen für Diagnostik und Therapie validiert und in der frühen Entwicklung optimiert. Sind mögliche Arzneimittelkandidaten erkannt,

werden Wirksamkeit und Sicherheit getestet. Für die Zulassung von Medikamenten führt das Fraunhofer ITEM toxikologische und sicherheitspharmakologische Prüfungen unter Einhaltung der GLP-Richtlinien (»Good Laboratory Practice«) durch. In der Pharmazeutischen Biotechnologie werden Herstellungsverfahren für biopharmazeutische Wirkstoffe entwickelt. Für klinische Prüfungen mit Biopharmazeutika stellen wir die Prüfsubstanz nach GMP-Richtlinien (»Good Manufacturing Practice«) her. Auch Infusionslösungen werden aseptisch in einer GMP-Einheit abgefüllt.

Klinische Studien

Für die Zulassung von Arzneimitteln für die Indikationen Allergie, Asthma und COPD (bekannt als Raucherhusten) führt das Fraunhofer ITEM unter der Leitung von Fachärzten klinische

Themen im Überblick

DIAGNOSE UND THERAPIE

- Medikamente und Diagnostika prüfen und entwickeln
 - Pharmakologische und toxikologische Forschung und GXP-Studien
 - Klinische Forschung und Entwicklung auf dem Gebiet der entzündlichen und allergischen Erkrankungen der Atemwege

PRÄVENTION

Potenzielle Schadstoffe analysieren und bewerten

- Toxikologische Untersuchungen, Gefährdungsbeurteilung und Risikoabschätzung; insbesondere von inhalierbaren Schadstoffen
- Prüfung und Registrierung von Chemikalien, Bioziden und Pflanzenschutzmitteln

MECHANISTISCHE UNTERSUCHUNGEN

- Pathogenese von Erkrankungen
- Exogene und endogene Wirkstoffe



Studien nach GCP-Richtlinien (»Good Clinical Practice«) durch, vor allem Studien der Phasen I und II. Als besondere Ausstattung stehen dafür verschiedene Expositionsräume zur Verfügung. In der sogenannten Fraunhofer Environmental Challenge Chamber, die bisher für die Exposition mit Gräserpollen genutzt wurde, sollen zukünftig auch andere Allergene getestet werden.

Potenzielle Schadstoffe bewerten

Ob am Arbeitsplatz, in der Umwelt oder in Verbraucherprodukten – wir weisen Schadstoffe nach und prüfen, inwieweit der Mensch exponiert wird. Komplexe Atmosphären können im Labormaßstab nachgestellt werden. Am Fraunhofer ITEM werden alle Untersuchungen angeboten: vom Nachweis der luftgetragenen Schadstoffe bis hin zur Herstellung geeigneter Testaerosole für *In-vivo*- und *In-vitro*-Studien. Für eine verlässliche Beurteilung der Gefährdung werden Inhalations- und allgemein-toxikologische Untersuchungen durchgeführt: an Zellen, Geweben und Organismen.

Chemikalien prüfen und registrieren

Auf der Grundlage von eigenen experimentellen Studien, von Literaturrecherchen und von Daten der Auftraggeber erstellen unsere Wissenschaftler Berichte über Prüfsubstanzen und führen bei Bedarf Expositions- und Risikoabschätzungen für den Menschen durch. Außerdem unterstützt das Institut die Kunden bei der Registrierung von Chemikalien und komplexen Gemischen und bei der Bewertung von Stoffen, die der neuen europäischen Chemikalienverordnung REACH unterliegen.

Expertise in der Mess- und Verfahrenstechnik: Inhalierbare Aerosole für die Wirkungsforschung

Für Inhalationsstudien sind das umfassende Fachwissen und die langjährige Erfahrung der Aerosoltechnologen am Fraunhofer ITEM eine wesentliche Voraussetzung. Das Know-how

über die Aerosolisierung von Substanzen sowie über die Deposition und Kinetik von inhalierten Stoffen wird auch für die Entwicklung von Arzneimittelaerosolen genutzt.

Know-how kombinieren

Das Fraunhofer ITEM kooperiert mit Partnerinstituten innerhalb der Fraunhofer-Gesellschaft und kombiniert das eigene Know-how mit dem externer Kooperationspartner. Dadurch wird das Leistungsangebot noch umfassender. Wichtige Partner in der unmittelbaren räumlichen Nähe des Instituts sind z.B. die Medizinische Hochschule Hannover (MHH), das Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung (HZI) in Braunschweig und das TWINCORE. Gemeinsam mit der MHH und dem HZI gründet das Fraunhofer ITEM ein neues Zentrum für Translationsforschung, das »Hannover Center for Translational Medicine« (HCTM). Damit wird eine optimale Infrastruktur für frühe klinische Studien (Phasen I und II) und die Basis für eine enge Verzahnung von Grundlagenforschung und klinischer Forschung geschaffen. Die Bauarbeiten für das HCTM, ein wichtiges Element der medizinischen Translationsallianz in Niedersachsen (TrAiN), beginnen 2011.

Die am Institut vorhandenen Kompetenzen sind in vier Geschäftsfeldern gebündelt:

- 1. Pharmaforschung und -entwicklung,
Medizinische Biotechnologie und Molekulare Medizin
- 2. Klinische Atemwegsforschung
- 3. Gewerbe-, Umweltoxikologie und Verbraucherschutz
- 4. Prüfung und Registrierung von Chemikalien, Bioziden und Pflanzenschutzmitteln

GXP – QUALITÄT AUF HÖCHSTEM NIVEAU

Qualitätssicherung im wissenschaftlichen Bereich ist ein entscheidendes Anliegen am Fraunhofer ITEM. Die Abteilung Qualitätssicherung als zentrale Einrichtung des Institutes ist verantwortlich für die Umsetzung des Qualitätssicherungsprogramms, das auf den GXP-Regularien basiert. Sie unterstützt damit die Institutsleitung bei der Sicherstellung der entsprechenden Qualitätsanforderungen.

Unter GXP werden die gesetzlich geforderten und von den Behörden überwachten Qualitätssicherungssysteme GLP (»Good Laboratory Practice«, Gute Laborpraxis), GCP (»Good Clinical Practice«, Gute Klinische Praxis) und GMP (»Good Manufacturing Practice«, Gute Herstellungspraxis) verstanden. Sie sollen gewährleisten, dass die Prozesse bei der Herstellung und Entwicklung von Arzneimitteln und der Sicherheitsprüfung von Chemikalien zuverlässig und nachvollziehbar durchgeführt werden und die erhobenen Daten valide sind.

Über 15 Jahre »Gute Laborpraxis«

Bei den nicht-klinischen Sicherheitsprüfungen stellt die Abteilung Qualitätssicherung die Umsetzung aller GLP-Anforderungen sicher. Die wichtigsten sind:

- klare Verantwortlichkeiten innerhalb der Prüfeinrichtung
- sorgfältige Planung jeder Prüfung
- nachvollziehbare Dokumentation aller Arbeitsschritte und umfassende Berichterstattung

Bei der Regelinspektion Ende 2010 wurde dem Fraunhofer ITEM die GLP-Konformität für seine Einrichtung und die durchgeführten Prüfungen von der zuständigen Überwachungsbehörde erneut bestätigt.

»Gute Klinische Praxis« in der Forschung umgesetzt

Für die klinischen Prüfungen, die in der Abteilung Klinische Atemwegsforschung durchgeführt werden, bilden die GCP-Anforderungen den Qualitätsrahmen. Die Abteilung Qualitätssicherung unterstützt die Prüfärzte bei der Erfüllung ihrer GCP-Pflichten und stellt bei Prüfungen, die von der Fraunhofer-Gesellschaft initiiert werden (sogenannte »Investigator-Initiated Trials«) die Wahrnehmung der Sponsor-Aufgaben durch die Fachabteilung sicher. Audits von Auftraggebern bestätigen das GCP-konforme Qualitätsniveau, das durch Schulung des Studienpersonals und Unterstützung bei der umfangreichen prozessspezifischen Dokumentation sichergestellt wird.

»Gute Herstellungspraxis« an den Standorten Hannover und Braunschweig

Die Herstellung der in den klinischen Prüfungen eingesetzten Prüfpräparate unterliegt den GMP-Anforderungen. Auch für die patientenspezifische Verdünnung und aseptische Abfüllung von Prüfpräparaten ist eine GMP-Einrichtung erforderlich. Die Abteilung Qualitätssicherung hat maßgeblich zum Aufbau einer solchen Einrichtung am Standort Hannover beigetragen. Die erfolgreiche Umsetzung der strengen GMP-Anforderungen wurde 2010 durch die Erteilung der GMP-Herstellungserlaubnis für die aseptische Herstellung von Prüfpräparaten behördlich bestätigt.



FORSCHUNGS- UND DIENSTLEISTUNGSANGEBOT

Am Standort Braunschweig unterstützt die Abteilung Qualitäts- sicherung kontinuierlich die Arbeiten der Pharmazeutischen Biotechnologie für die GMP-konforme Entwicklung von Prozessen zur Herstellung von biopharmazeutischen Wirkstoffen und klinischen Prüfpräparaten. Im Hinblick auf letztere wurde eine erneute Erweiterung der bislang vorliegenden GMP- Herstellungserlaubnis erreicht.



KONTAKT

Dr. Ilona Fleischhauer
Telefon +49 511 5350-304
ilona.fleischhauer@item.fraunhofer.de

Die Dienstleistungen, die das Fraunhofer ITEM seinen Kunden anbietet, sind im Folgenden in drei Bereiche gegliedert: Untersuchungen zu präventivmedizinischen Fragestellungen, zu neuen Diagnosemethoden und Therapiekonzepten sowie für die Zulassung und Herstellung von Arzneimitteln (präklinische und klinische Prüfungen).

Untersuchungen zu präventivmedizinischen Fragestellungen

- Identifizierung, Quantifizierung und Überwachung von Schadstoffen und ihren Quellen in der Umwelt, im Wohnbereich und am Arbeitsplatz
- Studien zur toxikologischen und gentoxikologischen Wirkung und zum Wirkungsmechanismus luftgetragener Stoffe (Fasern, Partikel, Gase) nach Inhalation
- Prüfung von Fremdstoffen auf ihr toxisches, gentoxisches, allergenes und irritatives Potenzial
- Untersuchungen zur Biobeständigkeit von Fasern
- Analyse und Persistenzprüfung von Luftverunreinigungen
- Bestimmung von Schadstoffen und ihren Metaboliten in Körperflüssigkeiten
- Bioverfügbarkeitsuntersuchungen
- DNA-Adduktforschung
- Untersuchungen zur Wirkung von Schadstoffen auf die Lungenfunktion (z. B. auf obstruktive oder restriktive Veränderungen, auch anhand von Asthma- und Allergiemodellen, oder auf irritatives Potenzial mit Alarie-Test)

- *In-vitro*-Prüfungen zur toxikologischen und gentoxikologischen Wirkung von inhalierbaren luftgetragenen Stoffen (Gasen und Aerosolen)
- Messung und Charakterisierung von Aerosolen sowie deren Erzeugung für experimentelle Untersuchungen
- Entwicklung neuer Verfahren zur wirkungsbezogenen Messung von Aerosolen
- Abschätzung und Modellierung zur Deposition und Kinetik von Aerosolen in verschiedenen Spezies (inkl. Mensch)
- Physikalische und chemische Charakterisierung von Consumer Sprays sowie Untersuchung des Gefährdungspotenzials
- Toxikologische und ökotoxikologische Bewertungen
- Abschätzung der Exposition für Mensch und Umwelt
- Risikoabschätzungen
- Toxikologische Untersuchungen (gemäß OECD-Richtlinien und nach den GLP-Grundsätzen) sowie Spezialuntersuchungen, z. B. zum Wirkungsmechanismus
- Erstellung von Dossiers für Chemikalien im Rahmen internationaler Aktivitäten zur Stoffbewertung (WHO, OECD)
- Registrierung und Zulassung von Chemikalien (REACH) und Bioziden (Biozidrichtlinie)
- Ableitung von Struktur-Wirkungsbeziehungen bzw. Kategorienentwicklung für den Endpunkt Toxizität bei wiederholter Aufnahme mit Hilfe der RepDose-Datenbank

Untersuchungen zu neuen Diagnosemethoden und Therapiekonzepten

- Untersuchungen zur Aufklärung der Mechanismen bei allergischen Entzündungen
- Analyse lungenphysiologischer, immunologischer, molekularbiologischer und histologischer Parameter in Maus-Modellen für das allergische Asthma
- Untersuchung der inhalativen Applikationsmöglichkeiten für Medikamente

- Aufklärung von Wirkungsmechanismen auf zellulärer und subzellulärer Ebene
- Bioanalytische Untersuchungen (Metaboliten, Protein- und DNA-Addukte, Biomonitoring)
- Untersuchung neuer Tiermodelle mit Hilfe der diagnostischen Radiologie und der molekularen Bildgebung (μ CT und μ PET)
- Identifizierung von Biomarkern für diverse Krankheitsbilder
- Molekulare Diagnostik von Genpolymorphismen
- Untersuchungen zur Signaltransduktion und Regulation der Genexpression
- Chip-basierte Genexpressionsanalysen
- Haplotyp-Analysen
- Chemisches Screening von Rohextrakten aus Pflanzen, Bakterien, Pilzen und tierischen Organismen mittels LC-NMR-MS

Untersuchungen für die Zulassung und Herstellung von Arzneimitteln (präklinisch und klinisch)

- Präklinische Untersuchungen von Arzneimitteln nach den Arzneimittelzulassungs-Richtlinien (allgemeine Toxikologie, Reproduktionstoxikologie, Immuntoxikologie, Gentoxikologie)
- Präklinische Untersuchungen von Pharmaka an Jungtieren (Jungtier-Toxikologie)
- Untersuchungen auf subchronische und chronische Wirkungen, insbesondere die Entstehung von Tumoren sowie auf teratogene Effekte
- Toxiko- bzw. pharmakokinetische Untersuchungen zur Aufnahme, Verteilung und Verstoffwechselung von Arzneimitteln im Organismus, in Organen oder Zellsystemen
- Inhalative Provokationsuntersuchungen mit Allergenen, Partikeln, Ozon und Endotoxin
- *In-vitro*-Prüfung von Pharmaka in Allergiemodellen aus humanen dendritischen Zellen
- Sicherheitspharmakologische Prüfungen an Ratte und Maus (Schwerpunkt: Respirationstrakt)



- Pharmakologische Wirksamkeitsstudien mit viralen, bakteriellen und fungalen Infektionsmodellen der Lunge
- Untersuchungen von pharmazeutischen Wirkstoffen hinsichtlich ihrer Wirkung auf die Lungenfunktion (z. B. anhand von Asthma-, Allergie-, COPD- und Infektionsmodellen)
- Studien zur molekularen Toxikologie
- Untersuchungen zur molekularen Medizin und Pharmakogenetik
- Klinische Arzneimittelstudien für die Indikationen Allergie, Asthma und chronische Bronchitis (Phasen I und II, unter GCP-Bedingungen)
- Sammlung, Prüfung und Dokumentation von Daten für die Nachzulassung von Arzneimitteln oder Tierarzneimitteln
- Entwicklung und Validierung von Herstellungsverfahren für biopharmazeutische Wirkstoffe und Arzneimittel
- Entwicklung von rekombinanten Produktionszelllinien
- Anlage von Master- und Working-Zellbänken (MCBs und WCBs)
- Herstellung von biopharmazeutischen Wirkstoffen für die präklinische Forschung
- GMP-Herstellung von Pilotchargen von biopharmazeutischen Wirkstoffen und Fertigarzneiformen für klinische Prüfungen

KUNDEN

Das Fraunhofer ITEM arbeitet erfolgreich mit Partnern und Auftraggebern aus nahezu allen Branchen zusammen, für die pharmakologische, toxikologische, biomedizinische, analytische und aerosoltechnische Fragestellungen von Bedeutung sind. Dazu gehören:

- Firmen der pharmazeutischen Industrie, die neue Wirkstoffe entwickeln und prüfen lassen
- Firmen der chemischen Industrie, die toxikologische Eigenschaften sowie die Umweltverträglichkeit ihrer Produkte für Zulassungszwecke prüfen lassen
- Firmen, Industrieverbände, Berufsgenossenschaften und Behörden, die gesundheitliche Risiken des Verbrauchers, des Mitarbeiters am Arbeitsplatz oder überhaupt des Menschen in seiner Umwelt bewerten lassen



ZUKUNTSFELDER

Zum Erfolgskonzept des Fraunhofer ITEM gehört es, technologische Trends und aktuelle Marktentwicklungen zu erkennen und das Dienstleistungsangebot entsprechend anzupassen. Von der Vorlaufforschung, den daraus gewonnenen wissenschaftlichen Erkenntnissen und innovativen Technologien profitieren die Kunden des Fraunhofer ITEM ebenso wie von den weiterführenden Projekten und vertiefenden Studien. Daher wurden die folgenden Arbeitsgebiete und Kompetenzen neu etabliert bzw. weiter ausgebaut:

- Entwicklung von validierten *In-vitro*-Screening-Tests zur Frage des Gefährdungspotenzials von Nanopartikeln und Nutzung von Nanopartikeln für therapeutische Zwecke, z.B. als Vehikel von therapeutischen Antikörpern
- Entwicklung und Validierung von robusten Plattformtechnologien zur Herstellung von biopharmazeutischen Wirkstoffen auf Basis von rekombinanten Antikörpern und Nukleinsäuren
- Entwicklung von adäquaten toxikologischen und pharmakologischen Testsystemen für die Zulassung von Biopharmaka gemäß den Anforderungen der Europäischen Arzneimittelagentur EMA
- Der nicht-menschliche Primat als Versuchsmodell: Entwicklung von Lungenentzündungsmodellen (in Zusammenarbeit mit dem Deutschen Primatenzentrum in Göttingen)
- Weiterentwicklung von *Ex-vivo*-Methoden (»Precision-cut lung slices«, PCLS) zur Untersuchung von Substanzeffekten auf die Lunge von Affe und Mensch (u.a. zur Bestimmung des allergenen Potenzials von Chemikalien, Pharmaka und Kosmetika)
- Immunologische und histopathologische Untersuchungen von humanem Probenmaterial aus dem Respirationstrakt
- *In-vitro*-Prüfungen (Screening) von luftgetragenen Aerosolen, einschließlich Medikamentenkandidaten
- Verfahrensentwicklung zur automatisierten, spezifischen Detektion und Quantifizierung biogener Luftschadstoffe
- Entwicklung von Konzepten für die Risikobewertung von Stoffgruppen im Rahmen der Registrierung von Chemikalien für die neue europäische Chemikalienverordnung REACH
- Untersuchung von Struktur-Wirkungsbeziehungen in der Toxikologie (QSAR) und Aufbau von toxikologischen Datenbanken zur Entwicklung von intelligenten Teststrategien in der Chemikalienbewertung
- Bildgebende Verfahren (CT und PET) in der tierexperimentellen Wirkungsforschung
- Realisierung von Exposition-Atmosphären mit unterschiedlichen Allergenen im Fraunhofer-Provokationsraum
- Zelltherapeutische Ansätze zur Modulation der allergischen Entzündung beim Asthma
- Entwicklung neuer Biomarker (ncRNA) für chronisch obstruktive Atemwegserkrankungen

AUSSTATTUNG

Die Forschungs- und Dienstleistungsaktivitäten des Instituts erfordern eine umfangreiche und teilweise sehr spezielle Ausstattung, die im Folgenden dargestellt ist:

Labors

- Tierhaus (inkl. Barrierefaltung für Nagetiere unter spezifiziert pathogenfreien Bedingungen)
- Tierhaltungsanlagen für inhalationstoxikologische Untersuchungen (Ganzkörper- und Nose-only-Inhalationsanlagen)
- Laboratorien für Arbeiten mit Infektionsmodellen (S2)
- Laboratorien für gentechnologische Arbeiten (S1 und S2)
- Fraunhofer Environmental Challenge Chamber: Expositionsräum für inhalative Provokationsstudien mit Allergenen
- Laboratorien zur Lungenfunktionsprüfung
- Technikumsanlagen zur Bioprozessentwicklung mit Bioreaktoren bis 500 L Volumen zur Kultivierung von Mikroorganismen und tierischen Zellkulturen sowie Prozesschromatographie- und -Filtrationssysteme zur anschließenden Wirkstoffisolierung

Sonderausstattung

- GMP-Reinraumanlagen zur biotechnischen Herstellung von biopharmazeutischen Wirkstoffen für frühe klinische Studien mit Herstellungserlaubnis gem. §13 AMG
- GMP-Reinraumanlage zur aseptischen Abfüllung von Prüfpräparaten gem. Annex 1 des EU-GMP-Leitfadens für klinische Studien (Phasen I und II) mit Herstellungserlaubnis gem. §13 AMG
- Anlagen zur inhalativen Arzneimittelapplikation in Kombination mit Lungenfunktionsmessung und Dosiskontrollsysten (im Tiermodell)

- Messplatz zur Erfassung der Lungenfunktion an wachen Ratten und Mäusen
- Spezielle Zellkulturexpositionseinrichtungen für *In-vitro*-Prüfungen von inhalierbaren Substanzen (z. B. Gase und Aerosole)
- Affymetrix-Station zur transkriptomweiten Genexpressionsanalyse
- Proteom-Analytik
- Anlagen zur Erzeugung von Prüfaerosolen und -gasen
- Strömungskanal zur Charakterisierung filternder Abscheider
- Anlagen zur Untersuchung von hoch- und niederfrequenten elektromagnetischen Feldern im Tierversuch (Mäuse und Ratten)
- Datenbanken für die Histopathologie und die Reproduktions-toxikologie

Geräte

- Gamma-Bestrahlungsanlage (Cs 137) für *In-vitro*- und *In-vivo*-Fragestellungen
- Anlagen zur computergestützten Verhaltensuntersuchung (Iokomotorische Aktivität, Auditory Startle Response)
- Micro-Computertomograph (μ CT) und Micro-Positronen-Emissionstomograph (μ PET)
- Geräte zur Anfertigung vitaler Lungen- und Leberschnitte (»Precision-cut lung/liver slices«)
- Kryostat zur Herstellung von Gefrierschnitten
- Durchflusszytometer zur Sortierung und Analyse verschiedener Zelltypen
- BIACORE-System zur Bestimmung von Rezeptor-Liganden-Wechselwirkungen
- Kapillarelektrophorese zur Analytik von Proteinen und Nukleinsäuren
- RT-PCR

- GMP-Anlagen zur Kultivierung von Mikroorganismen in Bioreaktoren mit Arbeitsvolumina bis 400 L
- Prozesschromatographie- und Filtrationsanlagen
- Lagertanks zur GMP-gerechten N₂-Gasphasenlagerung von Zellbanken
- Mikrosektionsgerät
- MALDI-TOF/TOF zur Proteinidentifizierung und für Genpolymorphismusanalysen
- Diskussionsdurchlichtmikroskop für 21 Beobachter mit digitaler Kamera und Projektionsanlage
- Bildanalyse-Computer mit Mikroskop zur Unterstützung der Quantifizierung von histopathologischen Bewertungen
- Konfokales Laser-Scanning-Mikroskop
- Multiphotonemikroskop
- Transmissions- und Rasterelektronenmikroskope mit Mikrosonden zur energiedispersiven Röntgenmikroanalyse (EDX = Energy Dispersive X-ray Analysis) für aerosolphysikalische, chemische und biologische Forschungsaufgaben
- Atomabsorptionsspektrometer, Gaschromatographen mit Massenspektrometer, HPLC mit Triple-Quadrupol-Massen-spektrometer
- Laserbeugungsspektrometer und »Particle Image Velocimetry« (PIV) zur Charakterisierung der Dynamik von Sprays
- Hochgeschwindigkeitskamera (bis zu 100 000 Bilder pro Sekunde) für hochdynamische Aerosolfreisetzungsprozesse
- »Scanning Mobility Particle Sizer™-Spektrometer« (SMPS) zur Analyse luftgetragener Nanopartikel
- 600 MHz hochauflösendes Kernresonanzspektrometer (NMR) in Kopplung mit HPLC und MS mit Kryotechnologie und Peaktrapping-Einheit
- Schwefelhexafluorid-Monitor zur Messung von Ventilationsraten in Räumen
- ZetaSizer®: Messung hydrodynamischer Partikelgrößenverteilungen (Nanopartikel) mit dynamischer Lichtstreuung sowie Messung des Zeta-Potenzials

Fachbibliothek

Die institutseigene wissenschaftliche Spezial-Bibliothek hat einen Bestand von rund 15 000 Büchern und 150 laufenden Zeitschriften-Abonnements. Sie bietet eine umfassende und rasche Literatur- und Informationsversorgung.



KURATORIUM

Die Kuratorien der einzelnen Fraunhofer-Institute stehen der Institutsleitung beratend zur Seite. Ihnen gehören Personen aus Wissenschaft, Wirtschaft und der öffentlichen Hand an. Mitglieder des Kuratoriums des Fraunhofer ITEM waren im Jahr 2010:

Dr. Eckhard von Keutz

Kuratoriumsvorsitzender
Senior Vice President, Global Head Early Development,
Bayer HealthCare AG

Professor Dr. Dieter Bitter-Suermann

Stellvertretender Kuratoriumsvorsitzender
Präsident und Präsidiumsmitglied für das Ressort Forschung
und Lehre der Medizinischen Hochschule Hannover

Professor Dr. Helmut Blome

Direktor des Instituts für Arbeitsschutz der Deutschen
Gesetzlichen Unfallversicherung

Dr. Ulrich Deschl

Leiter Nichtklinische Arzneimittelsicherheit,
Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG

Professor Dr. Paul-Georg Germann

Senior Vice President, Nycomed GmbH

Professor Dr. Thomas Jung

Global Head Development Immunology & Infectious
Diseases Franchise a.i.,
Novartis Pharma AG

Dr. Günther Karmann

Geschäftsführer, Karmann Consulting GmbH

Dr. Martin Kayser

Senior Vice President, Head of the Department of
Product Safety, Regulations, Toxicology and Ecology, BASF AG

Professor Dr. Hillel S. Koren

Managing Director, Environmental Health, LLC, USA

Professor Dr. Reinhard Pabst

Niedersachsen-Seniorforschungsprofessur
für Immunmorphologie,
Medizinische Hochschule Hannover

Professor Dr. Klaus F. Rabe

Innere Medizin – Pneumologie, Christian-Albrechts-Universität
zu Kiel; Chefarzt Pneumologie, Ärztlicher Direktor und
Medizinischer Geschäftsführer, Krankenhaus Großhansdorf

Professor Dr. Gerhard Schlüter

Consultant in Toxicology, ehemals Global Head Toxicology,
Bayer HealthCare AG

Ministerialrat Dr. Hans Schroeder

Leiter Referat Wissenschaft und Wirtschaft, EU-Strukturfonds,
Niedersächsisches Ministerium für Wissenschaft und Kultur

Dr. Thor A. Voigt

Head of Global Clinical Operations, Biometrics &
Data Management,
Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG

Ministerialrat Dr. Ekkehard Warmuth

Leiter Biotechnologie, Bundesministerium für Bildung und
Forschung (BMBF)
bis 30. Juni 2010

MELDUNGEN 2010

EATRIS: Translationsforschung europaweit vernetzen

Forschungsergebnisse der medizinischen Grundlagenforschung möglichst schnell, sicher und kostengünstig in Medikamente und Therapien umzusetzen, ist das Ziel der Translationsforschung. Sie funktioniert vor allem durch Vernetzung von Forschungsinstituten, Kliniken und Pharmafirmen. Das Fraunhofer ITEM hat diesen Weg der Vernetzung konsequent beschritten und ist regional beteiligt an der Translationsallianz in Niedersachsen (TrAiN) und europaweit an der EATRIS-Initiative »European Advanced Translational Infrastructure«, die die Gründung von europäischen Translationszentren koordiniert. Auf der diesjährigen EATRIS-Konferenz in Rom war das Fraunhofer ITEM durch Professor Norbert Krug vertreten, der die EATRIS-Arbeitsgruppe »Klinische Studien« leitet. Einig waren sich die Konferenzteilnehmer darin, dass eine offene Infrastruktur über Grenzen hinweg ein Motor für Innovationen im biomedizinischen Bereich sein wird.

Asthma: Neues EU-Projekt angelaufen

»Understanding Severe Asthma« – unter diesem Titel ist ein neues EU-Projekt bewilligt worden, an dem Wissenschaftler am Fraunhofer ITEM maßgeblich beteiligt sind. Das Projekt wird im Rahmen der »Innovative Medicines Initiative« (IMI) gefördert und ist damit eingebunden in ein europäisches Programm, das Forschung und Pharmafirmen zusammenbringt. Die Wissenschaftler wollen neue Modelle für schweres Asthma entwickeln und präklinische sowie klinische Untersuchungen durchführen. Getestet wird dabei auch die Wirkung von Infektionen auf Asthma. Ein neu eingerichtetes S2-Labor am Fraunhofer ITEM bietet alle Möglichkeiten, um mit Infektionsmodellen zu arbeiten.



Transparenz: Offene Türen für Groß und Klein

»Hannover will's WISSEN« lautete das Motto einer Hannover-weiten Wissenschaftsveranstaltung, bei der die Hochschulen und Wissenschaftseinrichtungen einen ganzen Monat lang zeigten, wie spannend Forschung sein kann. Das Fraunhofer ITEM war mit einem Tag der offenen Tür dabei und rund 300 Besucher und Besucherinnen nutzten die Möglichkeit, den Forschern über die Schulter zu schauen. Führungen und Vorträge brachten so einige Interessierte zum Staunen. Für die Nachwuchsforscher und -forscherinnen gab es auch in diesem Jahr wieder den Zukunftstag, an dem etwa 30 Mädchen und Jungen mehr über die Atemwegsforschung erfahren konnten.



Herstellung von klinischen Prüfmustern vor Ort möglich

Seit April 2010 verfügt das Fraunhofer ITEM über eine Erlaubnis zur aseptischen Herstellung klinischer Prüfmuster gem. §13 des Arzneimittelgesetzes: In einer neuen Abfüllanlage in Hannover können nun Infusionslösungen aseptisch hergestellt werden. Damit wurde die pharmazeutische Entwicklungskette am ITEM um das letzte noch fehlende Segment, die Herstellung von Prüfmustern zur unmittelbaren Anwendung in klinischen Prüfungen, komplettiert.

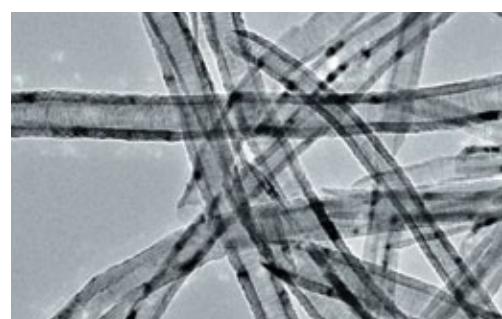


Fraunhofer ITEM an zwei Deutschen Zentren der Gesundheitsforschung beteiligt

Das Fraunhofer ITEM wird an den Deutschen Zentren für Lungenforschung (DZL) und für Infektionsforschung (DZI) beteiligt sein. In den Zentren, die vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) gegründet werden, sollen die besten Universitäten und außeruniversitären Forschungseinrichtungen zusammenarbeiten und dazu beitragen, den Transfer von Forschungsergebnissen aus dem Labor in die Klinik zu beschleunigen. Ein Gesamtkonzept wird Anfang 2011 vorliegen.

Nanomaterialien: Zwei neue Forschungsverbünde angelaufen

Mit den biologischen Wirkungen und möglichen Risiken von Nanopartikeln beschäftigen sich seit Mitte des Jahres zwei neue Forschungsverbünde des BMBF, an denen das Fraunhofer ITEM maßgeblich beteiligt ist. Im Verbund »CarbonBlack« geht es um die Risiken von aus kleinsten Nanopartikeln bestehendem Industrierauß, im Projekt »CarboTox« untersuchen die Wissenschaftler in den kommenden Jahren das kanzerogene Potenzial von faserartigen Kohlenstoff-Nanoröhren (Carbon Nanotubes). Die Projekte sind eingebettet in das BMBF-Förderprogramm »NanoCare«, das einen verantwortungsvollen Umgang mit Nanomaterialien zum Ziel hat.



RIBOLUTION: Neue Biomarker für Diagnostik und Therapie

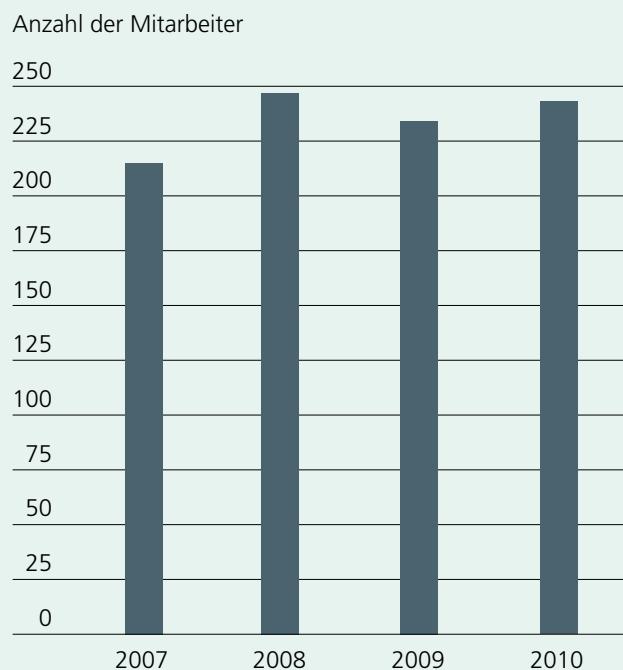
Mit RIBOLUTION, einem Projekt der Fraunhofer-Zukunftsstiftung, startet ein interdisziplinäres Vorhaben im Bereich der Molekularen Diagnostik. Fünf Fraunhofer-Institute, unter ihnen das Fraunhofer ITEM, haben sich zusammengetan, um eine neue Molekülklasse für die Biomarker-Entwicklung zu erschließen: die sogenannten nicht-kodierenden RNAs (ncRNAs). Diese Moleküle sollten sich aufgrund ihrer hohen Spezifität hervorragend als Biomarker für die Diagnostik und die Therapiekontrolle von Krankheiten eignen. Neben der Entwicklung von automatisierten Verfahren für die schnelle Identifizierung von Biomarkern werden auch Marker für einige prototypische Erkrankungen aufgespürt. Am Fraunhofer ITEM soll ein prognostischer Biomarker für die chronisch obstruktive Lungenerkrankung (COPD) entwickelt werden.

MITARBEITERENTWICKLUNG

Am Jahresende 2010 waren am Fraunhofer ITEM 244 Personen tätig. Im Folgenden ist die Anzahl der Mitarbeiter gegliedert nach den verschiedenen Beschäftigungsgruppen dargestellt:

81 wissenschaftliche Mitarbeiter
70 graduierte Mitarbeiter
74 technische Mitarbeiter
2 Doktoranden
3 wissenschaftliche Hilfskräfte
4 sonstige Hilfskräfte
10 Auszubildende

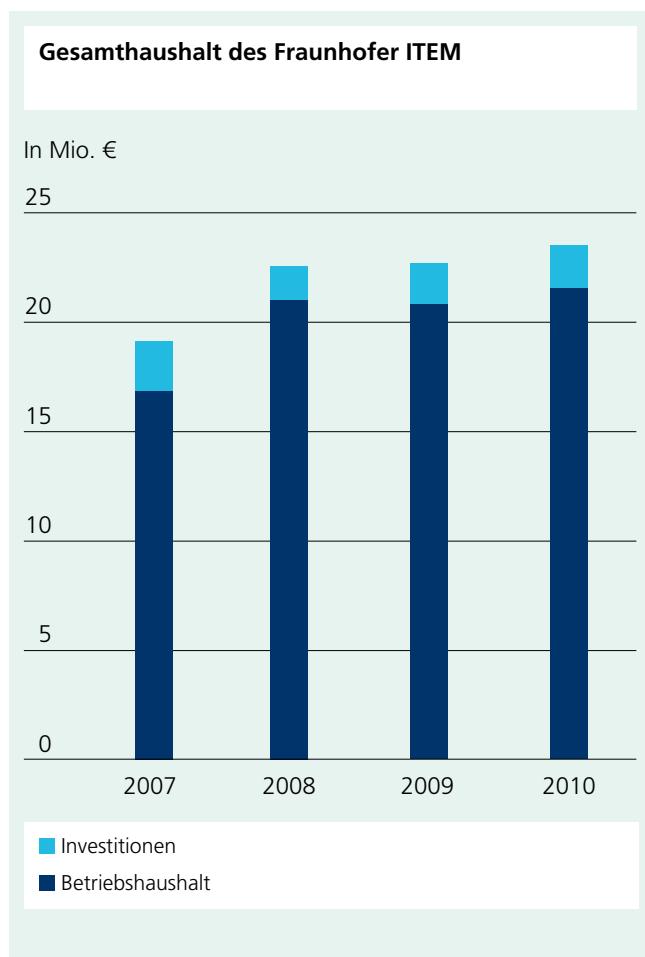
Das Personal des Fraunhofer ITEM



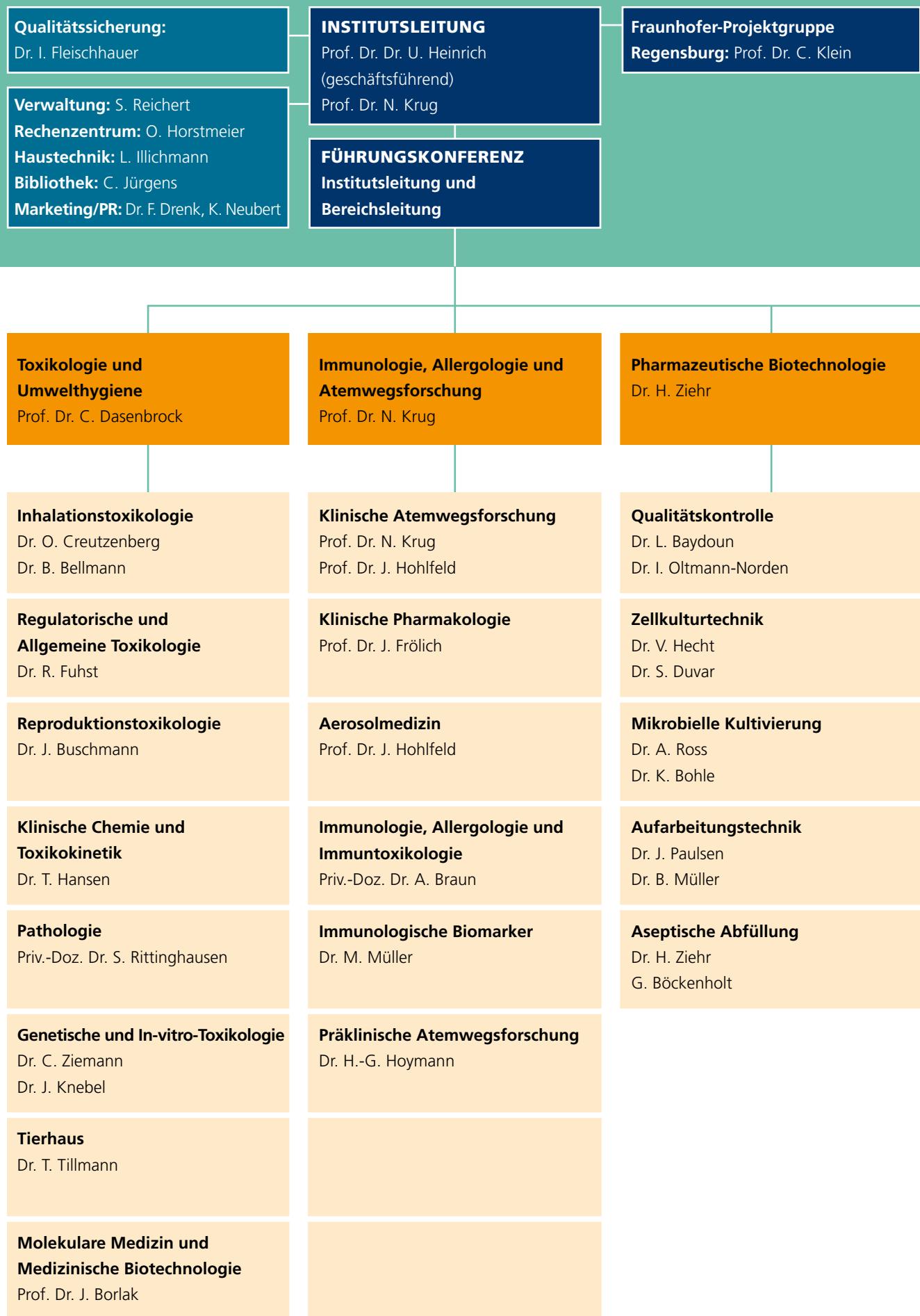
BETRIEBSHAUSHALT

Der Betriebshaushalt hat im Jahr 2010 ein Volumen von 21,6 Millionen Euro* erreicht. Dabei belief sich die Finanzierung aus selbst erwirtschafteten Mitteln auf 63 Prozent. Der Anteil der Industrieerträge am Betriebshaushalt betrug etwa 48 Prozent.

Die Investitionen des Fraunhofer ITEM beliefen sich auf rund 2 Millionen Euro.



ORGANIGRAMM FRAUNHOFER ITEM



Chemikalienbewertung, Datenbanken und Expertensysteme Dr. I. Mangelsdorf	Aerosolforschung und Analytische Chemie Prof. Dr. W. Koch
Chemikalien/REACH Dr. G. Könnecker Dr. O. Licht	Aerosoltechnologie Prof. Dr. W. Koch
Biozide Dr. A. Bitsch Dr. S. Hahn	Inhalationstechnologie Dr. G. Pohlmann
Tierarzneimittel Dr. A. Wibbertmann Dr. T. Hahn	Bio- und Umweltanalytik Dr. S. Schuchardt Dr. E. Berger-Preiß
Internationales Programm der WHO zur Chemikaliensicherheit Dr. I. Dobrev	Strukturanalytik Dr. S. Schuchardt
Teststrategien und Struktur-Wirkungsbeziehungen Dr. S. Escher, Dr. M. Batke	
Datenbanken und Informationssysteme Dr. R. Kellner	

Sie finden hier die Ansprechpartner für einzelne Bereiche, Abteilungen und Kompetenzen auf einen Blick. Der Bereich Pharmazeutische Biotechnologie hat seinen Hauptsitz in Braunschweig, ist aber auch für die GMP-Abfüllanlage im ITEM Hannover zuständig. Die Fraunhofer-Projektgruppe

hat ihren Sitz im BioPark Regensburg und ist aufgrund einer gemeinsamen Initiative von Fraunhofer ITEM/Fraunhofer-Gesellschaft und der Universität Regensburg entstanden. Zurzeit ist das Institut in vier Geschäftsfeldern tätig, die wir Ihnen im zweiten Teil des Jahresberichts vorstellen werden.

GESCHÄFTSFELD 1

**PHARMAFORSCHUNG UND -ENTWICKLUNG,
MEDIZINISCHE BIOTECHNOLOGIE UND
MOLEKULARE MEDIZIN**



PHARMAFORSCHUNG UND -ENTWICKLUNG, MEDIZINISCHE BIOTECHNOLOGIE UND MOLEKULARE MEDIZIN

Ausblick

Präklinische Tests im 21. Jahrhundert

Projektberichte

Entwicklung einer prä- klinischen Teststrategie für innovative inhalative Biopharmazeutika

Charakterisierung DNA- alkylierender Substanzen durch MALDI-TOF-Massen- spektrometrie

Vorlaufforschung

Nachweis lokaler Gentoxi- tät in der Lunge

Im Geschäftsfeld Pharmaforschung und -entwicklung, Medizinische Biotechnologie und Molekulare Medizin sind die Kompetenzen des Instituts gebündelt, die für die Entwicklung neuer pharmazeutischer Wirkstoffe und deren präklinische und sicherheitspharmakologische Untersuchungen sowie biotechnologische Herstellung (Biopharmazeutika) notwendig sind.

Es können alle notwendigen Stufen der Medikamentenentwicklung bearbeitet werden: von den ersten molekularen Strukturen über Untersuchungen an Zellen, Geweben und Organen bis hin zu Tiermodellen (und Probandenstudien, siehe Geschäftsfeld Klinische Atemwegsforschung, Seite 42).

Für das Auffinden neuer Zielstrukturen für Diagnostik und Therapie, also die Targetfindung, und für die Entwicklung neuer therapeutischer Konzepte stehen zahlreiche molekularbiologische Techniken aus den Bereichen Genomik, Proteomik und Metabolomik zur Verfügung. Mit Hilfe von maßgeschneiderten molekulartoxikologischen Untersuchungen können unerwünschte Nebenwirkungen von pharmakologisch wirksamen Substanzen bereits in einem frühen Stadium der Medikamentenentwicklung entdeckt, mechanistisch erklärt und gegebenenfalls durch Substanzoptimierung und Änderung des Applikationsweges vermieden oder reduziert werden.

Für präklinische Untersuchungen werden vielfach auch *In-vitro*-Methoden eingesetzt. Angefangen von den klassischen *In-vitro*-Methoden über Untersuchungen in transgenen Zelllinien werden auch Methoden entwickelt, die z. B. mit vitalen Lungenschnitten den Speziesvergleich über den Affen bis hin zum Menschen ermöglichen. Die Sicherheitsstudien für Biopharmaka, wie z. B. humanrekontrante Antikörper, benötigen besondere Testsysteme, um unerwünschte immunologische Effekte vor der erstmaligen Anwendung am Menschen zu erkennen und mit möglichst großer Sicherheit auszuschließen. Hierzu werden experimentelle Ansätze entwickelt, die eventuelle immunologische Reaktionen des menschlichen Organismus möglichst gut wiedergeben.

Für viele Fragestellungen und für Arzneimittelprüfungen sind *In-vivo*-Studien weiterhin unerlässlich und gesetzlich vorgeschrieben. Das Fraunhofer ITEM bietet folgende Untersuchungen an:

- Toxizitätsstudien an Nagern und Nichtnagern
- Toxizitätsstudien an Jungtieren (juvenile Toxikologie)
- Toxiko- und Pharmakokinetikstudien
- Untersuchungen zur Erkennung subchronisch- und chronisch-toxischer Effekte
- Identifizierung kanzerogener, teratogener oder mutagener Effekte
- sicherheitspharmakologische Studien
- Untersuchungen an Asthma-, Allergie-, Entzündungs- und Infektionsmodellen
- Studien zur Erfassung der Lungenfunktionsparameter bei Nagern (invasiv und nicht-invasiv)

Bei Bedarf werden auch moderne bildgebende Verfahren, wie die Mikro-Computertomographie und die Mikro-Positronen-Emissionstomographie, eingesetzt, beispielsweise um den Therapieerfolg neuer Pharmazeutika zu dokumentieren.

Sowohl die *In-vitro*- als auch die *In-vivo*-Studien werden nach den aktuellen GLP-Richtlinien durchgeführt. Ergänzend zu experimentellen Untersuchungen bietet das Fraunhofer ITEM seinen Kunden auch Unterstützung bei der Zulassung von Arzneimitteln an, einschließlich der notwendigen Dokumentation.

Auf dem Gebiet der Biotechnologie entwickelt und validiert das Fraunhofer ITEM Herstellungsverfahren für biopharmazeutische Wirkstoffe. Diese können bei Bedarf für präklinische und klinische Prüfungen entsprechend dem GMP-Qualitätsstandard hergestellt werden. Das Wirkstoffspektrum umfasst Proteine, Glykoproteine, Antikörper, Nukleinsäuren, Virus-Like-Particles und Bakteriophagen. Eine große Nachfrage besteht bereits für therapeutische Antikörper und wird künftig auch für Nukleinsäuren erwartet. Für die GMP-Herstellung dieser beiden Substanzklassen entwickelt das Fraunhofer-Institut robuste Technologieplattformen.

KONTAKT



Prof. Dr. Jürgen Borlak
Telefon +49 511 5350-559
juergen.borlak@item.fraunhofer.de



Dr. med. vet. Rainer Fuhrst
Telefon +49 511 5350-454
rainer.fuhrst@item.fraunhofer.de



Dr. Holger Ziehr
Telefon +49 531 6181-6000
holger.ziehr@item.fraunhofer.de

Ausblick

PRÄKLINISCHE TESTS IM 21. JAHRHUNDERT

EINLEITUNG

»Um weniger Tiere verwenden zu müssen und bessere Vorhersagen treffen zu können, müssen wir mittelfristig integrierte Teststrategien entwickeln.« Zu diesem Ergebnis kommt Thomas Hartung 2009 in der Zeitschrift Nature. Der frühere Leiter des Europäischen Zentrums zur Validierung alternativer Methoden (ECVAM), jetzt tätig in der transatlantischen Ideenfabrik CAAT-EU, entwickelte kürzlich eine kontrovers diskutierte Vision zu einer neuen Strategie für toxikologische Tests im 21. Jahrhundert. Lesen Sie im folgenden Beitrag, wie diese neuen Strategien aussehen können und welchen Weg das Fraunhofer ITEM in der präklinischen Forschung eingeschlagen wird.

Warum brauchen wir neue Strategien für toxikologische Tests im 21. Jahrhundert?

Es gibt zwei Hauptgründe für den Bedarf neuer Strategien. Erstens wurden die klassischen toxikologischen Tests entwickelt, um die Toxizität bekannter chemischer Substanzen vorherzusagen. Die neu entwickelten Arzneimittel sind völlig anders: sie enthalten hoch spezifische biologische Bestandteile, die oft nur im Menschen wirksam sind. Zweitens nehmen Tierversuche im öffentlichen Bewusstsein heute einen höheren Stellenwert ein, und man ist bemüht, die Anzahl von Tieren für Forschungszwecke zu reduzieren.

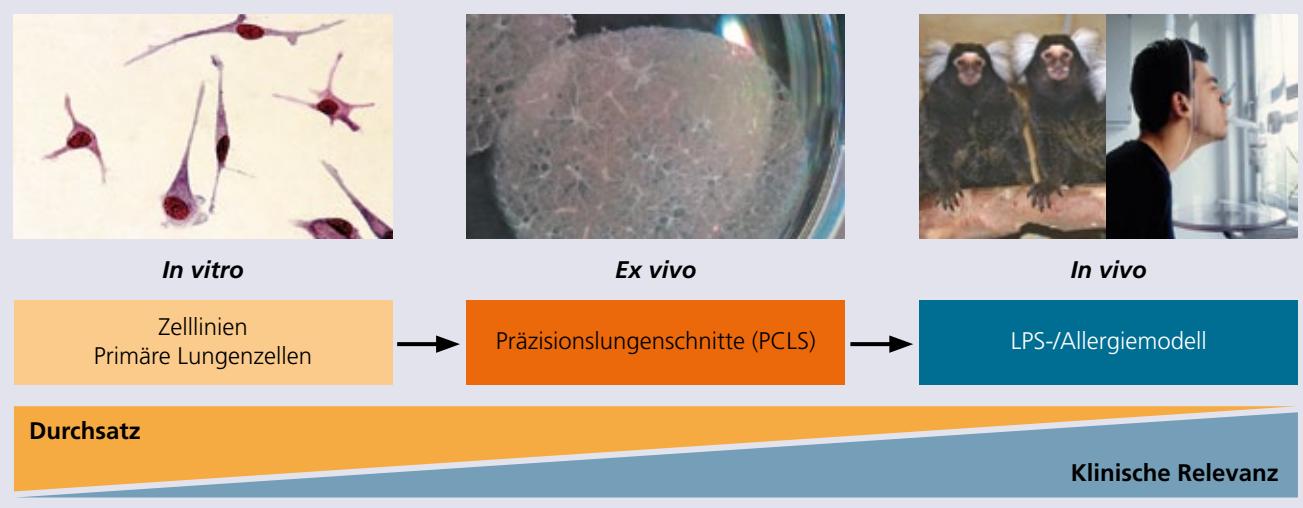
Gilt dies auch für präklinische Wirksamkeitsprüfungen?

Für präklinische Wirksamkeitsprüfungen gelten die gleichen Probleme wie für die Toxikologie. Auf dem Gebiet der Atemwegserkrankungen haben die üblichen Tiermodelle, wie z. B. gängige Ovalbumin-basierte Asthmamodelle der Maus, eine sehr begrenzte Aussagekraft. Wenngleich die Pharmaindustrie eine Vielzahl sehr spezifischer Immunmodulatoren wie Anti-IL4, Anti-IL5 und Anti-IgE entwickelt hat, die sich bei Mäusen als sehr wirksam erwiesen haben, war die klinische Wirksamkeit bei menschlichem Asthma sehr enttäuschend.

Welchen Weg werden wir am Fraunhofer ITEM gehen?

Unsere Strategie stützt sich auf die oben genannte Idee, integrierte Teststrategien zu nutzen. Interessanterweise führen diese Modelle zu einer Verschmelzung von Toxikologie und Wirksamkeitsprüfung. Die Idee ist ein dreistufiger Ansatz zur

Abb. 1: Dreistufiger Ansatz zur pharmakologischen und toxikologischen Prüfung neuer Arzneimittel



Entwicklung von Atemwegsmedikamenten (Abb. 1). Das Konzept sieht vor, wo immer möglich menschliche *In-vitro*- oder *Ex-vivo*-Systeme zu verwenden und Tierversuche nur für die endgültige Proof-of-concept-Studie durchzuführen.

Für *In-vitro*-Prüfungen haben wir z.B. ein auf dendritischen Zellen basierendes menschliches *In-vitro*-Allergiemodell entwickelt, das zum Testen immunmodulierender Arzneimittel verwendet werden kann (Knothe, S., 2010). Dieses Modell wird zurzeit erweitert, um zelltherapeutische Ansätze auf der Basis regulatorischer T-Zellen testen zu können. Für *Ex-vivo*-Prüfungen wurde die Methode der Präzisionslungenschnitte

(»precision-cut lung slices«, kurz: PCLS) entwickelt. Das PCLS-Modell bietet die einzigartige Möglichkeit, die Wirksamkeit und Toxizität biologischer Wirkstoffe, die inhalativ verabreicht werden sollen, in einer komplexen Situation in menschlichen Gewebepräparaten zu testen (Switala, S., 2010 a). Der erste Schritt beim Testen neuer Substanzen an PCLS besteht immer darin, den toxischen Schwellenwert zu bestimmen, also die Konzentration, bei der die Prüfsubstanz entweder eine Entzündung oder den Zelltod auslöst. Danach wird die pharmazeutische Wirksamkeit in einem subtoxischen Konzentrationsbereich getestet. Zum Testen immunmodulierender Arzneimittel können Entzündungsmodelle verwendet werden, bei denen

entweder Lipopolysaccharid (LPS) oder Ozon als Auslöser zum Einsatz kommen (Switalla, S., 2010 a, b). Des Weiteren werden derzeit Modelle der Bronchokonstriktion in der PCLS entwickelt.

Brauchen wir weiterhin Tierversuche?

Aus Sicherheitsgründen werden die Regulierungsbehörden auch in der Zukunft Tierversuche verlangen. Bis traditionelle, gut etablierte Methoden ersetzt werden können, ist es ein langer Weg. Allerdings lässt sich die Anzahl der benötigten Tiere schon heute verringern. In einem Projekt zur Lungentoxizität von Nanopartikeln, die als Arzneimittelträger zum Einsatz kommen sollten, wurde ein dreistufiger Ansatz verwendet. In einer ersten Versuchsreihe wurde die toxische Wirkung dieser »Solid Lipid Nanoparticles« (SLN) in einer menschlichen Epithelzelllinie (A 549) untersucht. Anhand der Ergebnisse wurde eine angemessene Dosis für die weiteren Prüfungen berechnet und diese dann in Lungengewebeschnitten von Mäusen getestet. Obwohl dieses System eine höhere Empfindlichkeit aufwies als die eingesetzte Zelllinie, zeigten beide Ansätze toxische Wirkungen von SLN in einem vergleichbaren Bereich. Auf der Grundlage dieser Daten konnte anschließend ohne weitere Versuche an lebenden Tieren eine Dosisabschätzung für *In-vivo*-Tests vorgenommen werden. Die abschließende Inhalationsstudie an Mäusen wurde nur mit den zuvor bestimmten Dosierungen durchgeführt, sodass die Anzahl der Versuchstiere erheblich reduziert werden konnte.

Welche Tiermodelle werden künftig benötigt?

Der entscheidende Punkt ist die Vorhersagekraft der Auswirkungen auf die Gesundheit des Menschen. Für diesen Zweck schreiben die gesetzlichen Richtlinien wie ICH S6 die Verwendung »relevanter Spezies« für präklinische Prüfungen vor. In vielen Fällen ist die Ermittlung eines geeigneten Modells

wegen der großen Spezifität der Arzneimittel und der anatomischen und physiologischen Unterschiede zwischen den Spezies eine Herausforderung. Am Fraunhofer ITEM haben Wissenschaftler einen *In-vitro*-Vollbluttest für verschiedene Spezies (Maus, Ratte, verschiedene Affenarten und Mensch) entwickelt, mit dem die geeignete Spezies für immunmodulierende Medikamente anhand der Konstellation der Werte bestimmt werden kann. Bei Medikamenten zur inhalativen Verabreichung können weitere Prüfungen mit PCLS aller oben genannten Spezies erfolgen. Das Testen von Biopharmazeutika verlangt jedoch am Ende die Durchführung abschließender Proof-of-concept-Studien *in vivo*. Zu diesem Zweck und als Ergänzung zu gut etablierten Nagermodellen hat das Fraunhofer ITEM in Zusammenarbeit mit dem Deutschen Primatenzentrum in Göttingen (DPZ) ein neues LPS-induziertes Lungenentzündungsmodell in Weißbüschelaffen, einer für Tierexperimente gängigen Affenart, entwickelt.

Wie werden Tierversuche mit nicht-menschlichen Primaten künftig durchgeführt?

Der Einsatz von Primaten in der präklinischen Forschung ist aus ethischen Gründen ein sehr sensibles Thema. Es wird intensiv diskutiert, inwieweit solche Versuche vertretbar sind. Beim aktuellen Stand der Entwicklung sind wir der Auffassung, dass Versuche mit Primaten in der Entwicklung neuer Biopharmazeutika unerlässlich sind, um die Sicherheit und Wirksamkeit der Medikamente zu gewährleisten. Denn die neuen Biopharmazeutika enthalten hochspezifische Wirkstoffe, die nur im Menschen bzw. in anderen Primaten wirksam sind. Um den ethischen Bedenken Rechnung zu tragen, wurden am Fraunhofer ITEM Protokolle für Versuche mit Weißbüschelaffen entwickelt, die den Protokollen für klinische Proof-of-concept-Studien am Menschen sehr ähnlich sind und klinische Symptome sowie das Auftreten von Verhaltensauffälligkeiten ausschließen. Dadurch werden ethische Bedenken

berücksichtigt und zusätzlich ermöglicht dieses Vorgehen eine gute Vergleichbarkeit mit Studien am Menschen. Die Tiere werden am DPZ in Göttingen einer Lungensegmentbehandlung mit LPS unterzogen, um lokale Entzündungsreaktionen in den Atemwegen hervorzurufen. Nach 24 Stunden wird dann eine Lavage des betreffenden Segments durchgeführt. Auftretende immunologische Reaktionen sind nach zwei Wochen abgeklungen, sodass die Tiere dann in ihre gewohnten Käfige zurückkehren können. Die Wirkung von Medikamenten auf die Entzündung kann anhand der Lavageflüssigkeit überwacht werden, ohne die Tiere zu töten. Klassische Medikamente wie Dexamethason und neu entwickelte Arzneien wie Roflumilast haben in diesem Modell bereits ihre entzündungshemmenden Wirkungen gezeigt. Ein weiterer Schritt zur Minimierung der versuchsbedingten Belastungen wird die nichtinvasive Überwachung des Entzündungsgeschehens durch bildgebende Methoden sein, die zurzeit entwickelt werden.

Wir sind der Meinung, dass Tierversuche mit nicht-menschlichen Primaten so lange erforderlich sein werden, bis vorherrschende kräftige *In-vitro*-Methoden entwickelt wurden. Jedoch wird sich die Art und Weise, wie Tiere in der präklinischen und toxikologischen Forschung eingesetzt werden, weiter optimieren. Für die Zukunft wird angestrebt, Tiere nach Möglichkeit wie menschliche Probanden in klinischen Studien zu behandeln.

Wie werden präklinische Prüfungen im 21. Jahrhundert am Fraunhofer ITEM aussehen?

Durch frühzeitige Verwendung menschlicher *In-vitro*- und *Ex-vivo*-Modelle wird man bereits in einem frühen Stadium Informationen über das toxikologische und das Wirksamkeitsprofil neu entwickelter Arzneimittel erhalten. Insbesondere durch Fortschritte im Bereich der Gewebezüchtung wird es möglich, verbesserte *In-vitro*-Testsysteme zu konstruieren.

Diese Systeme werden am Fraunhofer ITEM in enger Zusammenarbeit mit der Medizinischen Hochschule Hannover weiter entwickelt.

Literatur

- Hartung, T. (2009) Toxicology for the twenty-first century. In: Nature 460 (7252): 208-12
- Knothe, S.; Mutschler, V.; Rochlitzer, S.; Winkler, C.; Ebensen, T.; Guzman, C. A.; Hohlfeld, J.; Braun, A.; Muller, M. (2010) Local treatment with BPPcysMPEG reduces allergic airway inflammation in sensitized mice. In: Immunobiology, May 8 (Epub)
- Switalla, S.; Lauenstein, L.; Prenzler, F.; Knothe, S.; Förster, C.; Fieguth, H. G.; Pfennig, O.; Schaumann, F.; Martin, C.; Guzman, C. A.; Ebensen, T.; Müller, M.; Hohlfeld, J. M.; Krug, N.; Braun, A.; Sewald, K. (2010 a) Natural innate cytokine response to immunomodulators and adjuvants in human precision-cut lung slices. In: Toxicology and Applied Pharmacology, Apr 29 (Epub)
- Switalla, S.; Knebel, J.; Ritter, D.; Krug, N.; Braun, A.; Sewald, K. (2010 b) Effects of acute *in vitro* exposure of murine precision-cut lung slices to gaseous nitrogen dioxide and ozone in an air-liquid interface (ALI) culture. In: Toxicology Letters 196 (2): 117-243



KONTAKT

Priv.-Doz. Dr. Armin Braun
Telefon +49 511 5350-263
armin.braun@item.fraunhofer.de

Projektbericht

ENTWICKLUNG EINER PRÄKLINISCHEN TESTSTRATEGIE FÜR INNOVATIVE INHALATIVE BIOPHARMAZEUTIKA

ZUSAMMENFASSUNG

Die Bedeutung von Biopharmazeutika wird in der Zukunft weiter steigen. Im Unterschied zu chemischen Substanzen wird der Zulassungsprozess aber weniger durch starre Richtlinien geregelt. Dennoch wird der Rahmen von einem Richtliniensystem abgesteckt, welches die Untersuchungsschwerpunkte definiert, dabei aber ein flexibleres, von Fall zu Fall unterschiedliches Herangehen erlaubt. Diese Situation stellt eine Herausforderung sowohl für die Industrie, die derartige Substanzen entwickelt, als auch für die entsprechenden Prüfeinrichtungen dar, die die Industrie dabei unterstützen, die Grundlage für erste klinische Untersuchungen am Menschen (»first in man«) zu schaffen. Wir beschreiben hier ein konkretes Beispiel einer Teststrategie, die in enger Kooperation mit einem Partner aus der Industrie entwickelt, während eines Scientific Advice beim Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM) vorgestellt und letztlich durch die Behörde akzeptiert wurde.

Das Netzwerk der Richtlinien

Die wichtigsten Richtlinien für diesen präklinischen Testprozess können auf der Homepage der Europäischen Arzneimittelagentur (EMA; s. u.) gefunden werden, wobei ICH Topic S6 (R1) von besonderer Bedeutung ist. Zweck dieses Addendums ist es, die Richtlinie S6 zu präzisieren, besonders bezüglich der dort diskutierten Punkte der Spezies-Auswahl, des Studiendesigns, der Immunogenität, Reproduktions- und Entwicklungstoxizität sowie hinsichtlich der Untersuchungen zum kanzerogenen Potenzial. Diese Richtlinie S6 (R1) gilt speziell für Substanzen wie Zytokine, Plasminogen-Aktivatoren, rekombinante Plasmafaktoren, Wachstumsfaktoren, Fusionsproteine, Enzyme, Rezeptoren, Hormone, monoklonale Antikörper, rekombinante DNA-Protein-Vakzine, synthetische Peptide, aus Plasma gewonnene Produkte, endogene Proteine aus menschlichem Gewebe und Oligonukleotide.

Die genannte Richtlinie S6 (R1) besagt, dass die Teststrategie wissenschaftlich begründet und auf der Basis einer Fallentscheidung ausgewählt werden soll. Innerhalb des Richtlinien-Netzwerkes sind für die präklinischen Studien die Auswahl des relevanten Tiermodells, Alter, physiologischer Status, Art der Verabreichung, Dosis, Applikationsroute, Behandlungsregime, Stabilität des zu untersuchenden Materials und die generellen GLP-Richtlinien in Betracht zu ziehen.

Ein spezieller Fall: ein Oligonukleotid

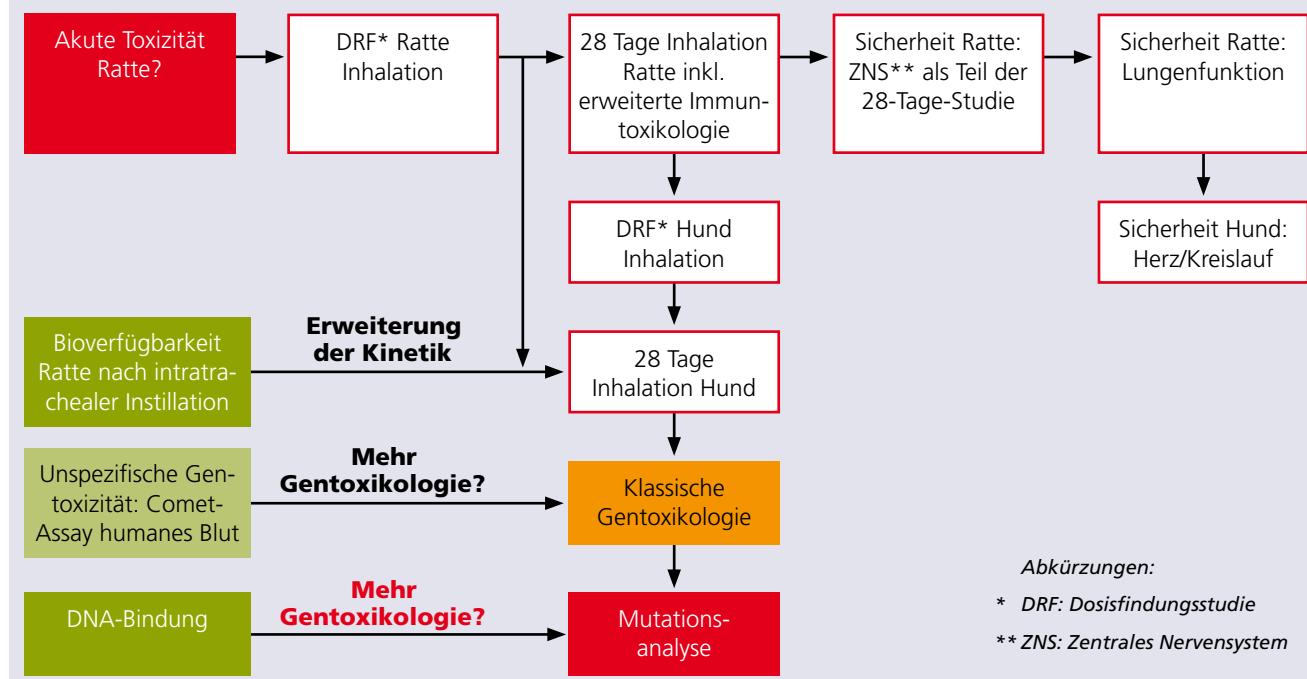
In diesem konkreten Fall bestand die Aufgabe darin, eine präklinische Teststrategie für ein Oligonukleotid, gedacht als innovatives antiasthmatisches Inhalationspräparat, zu entwickeln, welche schließlich die Basis für den ersten klinischen Test im Menschen bilden soll. Eine Zusammenfassung dieser Teststrategie ist in der Abbildung dargestellt.

Die Auswahl der relevanten Tierart und der Applikationsroute war der erste Schritt. Basierend auf der Überlegung, dass der angenommene Wirkmechanismus in den routinemäßig ein-

gesetzten Tierarten Ratte (Nager) und Hund (Nichnager) anwendbar ist, wurden ebendiese Arten ausgewählt. Als eine alternative Nichnager-Art hätte auch das Minischwein zur Verfügung gestanden. Entsprechend der inhalativen Applikationsroute beim Menschen soll diese Route auch in den Untersuchungen mit wiederholter Applikation eingesetzt werden.

Aufgrund des Typs des zu untersuchenden Biopharmazeutikums, eines DNAzyms, stellten die Untersuchungen zur Gentoxizität eine besondere Herausforderung dar. Auf der Grundlage des »Reflection Paper on the Assessment of the Genotoxic Potential of Antisense Oligodeoxynucleotides«

Abb. 1: Präklinische Teststrategie für ein spezielles Oligonukleotid



(CHMP/SWP/199726/04, Januar 2005) wurden zwei unterschiedliche Wirkmechanismen betrachtet, nämlich die unspezifische Gentoxizität (Clastogenität) und die genspezifische Gentoxizität (Mutagenität). Zur Untersuchung der unspezifischen Gentoxizität wurde der Comet-Assay mit unstimuliertem und stimuliertem menschlichen Blut ausgewählt. Im Falle eines negativen Ergebnisses wäre keine unspezifische Gentoxizität zu erwarten, jedoch gäbe dies keine Aussage bezüglich einer genspezifischen Gentoxizität. Im Falle eines positiven Ergebnisses (unspezifische Clastogenität) wären klassische Gentoxizitätstests durchführbar. Genspezifische Gentoxizität als zweiter möglicher Wirkmechanismus wäre über eine Tripelhelixbildung und nachfolgende genspezifische Mutation(en) im Zielgen denkbar.

Allerdings würde eine Tripelhelixbildung genspezifische Bindungsaktivität voraussetzen. Da jedoch die durchgeführten DNA-Bindungsstudien alle negativ waren, gab es keinerlei Hinweise auf eine genspezifische gentoxische Wirkung des Oligonukleotids.

Die Untersuchung der akuten Toxizität nach einmaliger Verabreichung wurde für das zu untersuchende Biopharmazeutikum als nicht notwendig erachtet, vor allem auch wegen der hohen zu erwartenden Belastung der Tiere und der eingeschränkten Bedeutung dieser Daten für Biopharmazeutika. Stattdessen wurde vorgeschlagen, relativ hohe Dosen in der 14-Tage-Dosisfindungsstudie (Dose Range Finder, DRF) für die nachfolgende 28-Tage-Studie mit Ratten zu untersuchen. Für beide Studien wurde die Nose-/Head-only-Inhalation als Expositionsroute gewählt. Die Endpunkte umfassten sowohl Routineparameter als auch ein erweitertes Spektrum immunoökologischer Parameter. Letztere beinhalteten ihrerseits Standardparameter (Gesamtzahl Leukozyten, Zelldifferenzierung, Globulin, IgA/IgG, Gewichte der lymphatischen Organe, Histo-

pathologie, Bestimmung von IgG und IgA im Serum zu zwei unterschiedlichen Zeitpunkten) sowie funktionelle Untersuchungen potenziell negativer Auswirkungen auf die T-Zell-abhängige Antikörper-Reaktion (Immunstatus in Blut und Milz, Lymphozytenproliferation, Zytokinsekretion).

Für die zweite Spezies wurde für die 28-Tage-Studie mit Hunden (basierend auf den Ergebnissen einer vorhergehenden DRF-Studie) die Head-only-Inhalation als Expositionsroute gewählt. Diese Studie beinhaltet im Wesentlichen Routineparameter (Körpergewicht, Futter- und Wasserverbrauch, klinische Befundung, EKG, Hämatologie, klinische Chemie, Makropathologie, komplette Histopathologie von allen Tieren und Toxikokinetik).

Die sicherheitspharmakologischen Studien umfassen einerseits Untersuchungen des respiratorischen Systems durch Lungenfunktionsmessungen bei Ratten nach inhalativer Exposition mit folgenden Endpunkten: nicht-invasive Lungenfunktionsmessung (Head-out-Plethysmographie), tidal midexpiratory flow (EF50), midexpiratory flow, Atemfrequenz, Atemzugvolumen sowie Ein- und Ausatemzeit. Andererseits wurden sicherheitspharmakologische Untersuchungen des Herz-Kreislaufsystems nach intravenöser Applikation an trainierten Hunden mit der Messung des EKG sowie des Blutdrucks zu unterschiedlichen Zeitpunkten bis zu sechs Stunden nach der Applikation unter Einbeziehung kinetischer Daten durchgeführt. Zusätzlich dazu waren sicherheitspharmakologische Untersuchungen des Zentralen Nervensystems Teil der 28-Tage-Inhalationsstudie mit Ratten, wo während der letzten Behandlungswöche eine Functional Observational Battery (FOB) durchgeführt und die lokomotorische Aktivität bestimmt wurde.

Ausblick

Die hier dargestellte fallspezifische Herangehensweise wurde in enger Zusammenarbeit mit dem Sponsor, sterna biologicals, Marburg, entwickelt und während eines Scientific Advice beim BfArM vorgestellt, dort diskutiert und schließlich von der Behörde vollständig akzeptiert. Die beschriebenen präklinischen Studien werden derzeit durchgeführt.

Literatur

ICH topic M 3 (R2): Non-Clinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals (CPMP/ICH/286/95), December 2009

CPMP/SWP/1042/99 Rev 1: Guideline on repeated dose toxicity, March 2010

ICH Topic S6 (R1): Preclinical safety evaluation of biotechnology-derived pharmaceuticals (CPMP/ICH/302/95), Step 3, November 2009

Die wichtigsten Richtlinien finden Sie hier:

[http://www.ema.europa.eu/htms/human/humanguidelines/
nonclinical.htm](http://www.ema.europa.eu/htms/human/humanguidelines/nonclinical.htm)

KONTAKT



Dr. Rainer Fuhst
Telefon +49 511 5350-454
rainer.fuhst@item.fraunhofer.de



Priv.-Doz. Dr. Holger Garn
(sterna biologicals, Marburg)
Telefon +49 6421 98300-50
holger.garn@sterna-biologicals.com

Projektbericht

CHARAKTERISIERUNG DNA-ALKYLIERENDER SUBSTANZEN DURCH MALDI-TOF-MASSEN- SPEKTROMETRIE

ZUSAMMENFASSUNG

Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe können im Stoffwechsel zu Zwischenprodukten führen, die die Bildung von DNA-Addukten herbeiführen. Diese induzierten Addukte können Krebs auslösen. Forscher sind daher seit langem auf der Suche nach schnellen und sicheren Verfahren, mit denen sie sich genau analysieren lassen. Auf der Grundlage der Massenspektrometrie haben die Wissenschaftler am Fraunhofer ITEM nun ein hochsensitives Verfahren entwickelt, mit dem gleichzeitig eine Identifizierung der chemischen Substanz und die Charakterisierung der DNA-Addukte möglich ist.

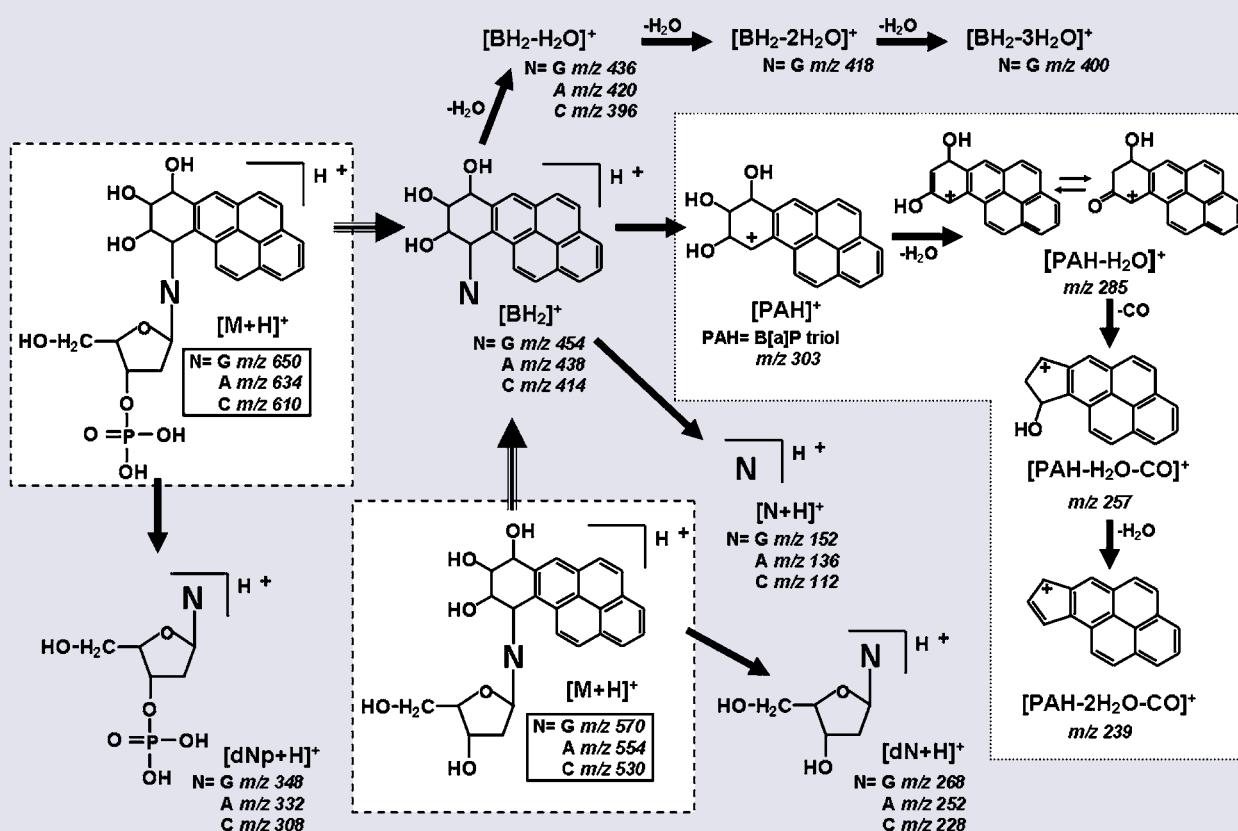
Einleitung

Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK) sind Umweltschadstoffe, die überall vorkommen und in erster Linie durch unvollständige Verbrennung von organischem Material entstehen, z. B. in Automobilabgasen, Tabakrauch und Steinkohleteer, aber auch beim Erhitzen von geräucherten oder gegrillten Lebensmitteln. Zwar sind diese Kohlenwasserstoffe nicht *per se* krebserregend, doch werden bei ihrer Verstoffwechselung Zwischenprodukte erzeugt, die mit Nukleinsäuren und Proteinen reagieren können und so zur Bildung von DNA-, RNA- und Proteinaddukten führen. Schätzungen zufolge kommt es täglich zu 50 000 DNA-Schädigungen. DNA-Reparaturenzyme können DNA-Addukte zwar effektiv beseitigen, aber es bleiben nicht-reparierte Schäden, die Mutationen verursachen und damit bösartige Entartungen auslösen können. Somit wurde die Exposition gegenüber PAK mit Lungen-, Haut- und Blasenkrebs in Verbindung gebracht.

PAK werden durch verschiedene Mechanismen in ihre aktive Form überführt, bei der es sich um ein Dihydrodolepoxid (DE) handelt. Bei der endgültigen reaktiven DE-Spezies handelt es sich um Elektrophile, die durch cis- oder trans-Addition mit der exozyklischen Aminogruppe der DNA-Basen kovalent reagieren. Untersuchungen zum PAK-Metabolismus, zur DNA-Bindung, zur Mutagenität sowie Zelltransformationstests haben gezeigt, dass polyzyklische aromatische Kohlenwasser-



Abb. 1: Vorgeschlagener MALDI-MS/MS-CID-Fragmentierungspfad für B[a]PDE-2'-desoxynukleoside und B[a]PDE-2'-desoxynukleosid-3'-phosphat. G: Guanin, A: Adenin; C: Zytosin.



stoffe wie Benzo[a]pyren (B[a]P), Chrysen, Benzo[c]chrysen (B[c]Ch), Benzo[c]phenantren (B[c]Ph), 5-Methylchrysen und Dibenzo[a,l]pyren als bevorzugte Alkylierungsstellen mit Aminogruppen der Purinbasen reagieren. Typische Angriffsstellen innerhalb der DNA sind die exozyklische Aminogruppe (N^4) von Zytosin. Die biologische Aktivität der einzelnen PAK wird wesentlich durch ihre molekulare Struktur bestimmt, da die metabolisch aktivierten Epoxide je nach sterischer Lage in einer Bay- oder Fjord-Region unterschiedliche kanzerogene Eigenschaften haben.

exozyklische Aminogruppe (N^4) von Zytosin. Die biologische Aktivität der einzelnen PAK wird wesentlich durch ihre molekulare Struktur bestimmt, da die metabolisch aktivierten Epoxide je nach sterischer Lage in einer Bay- oder Fjord-Region unterschiedliche kanzerogene Eigenschaften haben.

Aufgabenstellung

Viel Forschungsarbeit wurde bereits in die Identifizierung von PAK-induzierten DNA-Addukten investiert und zu den Lösungsansätzen zählten HPLC-Trennverfahren in Kombination mit Ultravioletstrahlung oder NMR, zirkularer Dichroismus (CD), UV/VIS-Spektroskopie, Fluoreszenzspektroskopie und Immunoassays. Die am häufigsten verwendete und auch sehr empfindliche Methode zum Nachweis von DNA-Addukten ist jedoch der ^{32}P -Postlabeling-Assay. Bei dieser Methode wird die genomische DNA durch enzymatische Hydrolyse zu einfacherem Desoxynucleosid-3'-Monophosphat reduziert. Durch enzymatische Übertragung radioaktiv markierter Phosphatgruppen von $[^{32}\text{P}]$ -ATP auf Nukleotide mit anschließender mehrdimensionaler Dünnschichtchromatographie ist es dann möglich, modifizierte Nukleotide zu separieren und nachzuweisen. Dieses Verfahren ist weit verbreitet, vor allem aufgrund der geringen erforderlichen DNA-Menge und der hohen Empfindlichkeit; es lässt sich damit ein Addukt unter 10^6 bis 10^8 adduktfreien Nukleotiden (5 µg DNA) nachweisen. Andererseits handelt es sich jedoch auch um ein sehr aufwändiges Verfahren, das hohe Schwankungen zwischen verschiedenen Laboren und auch innerhalb eines Labors aufweist. Außerdem kann auch die chemische Beschaffenheit und molekulare Struktur der alkylierenden Substanz mit dieser Methode nicht ermittelt werden. Es wird somit ein hochsensitives Verfahren benötigt, mit dem gleichzeitig eine Identifizierung der chemischen Substanz und die Charakterisierung der DNA-Addukte möglich ist.

Die entwickelte Lösung

Zur Untersuchung von PAK-induzierten DNA-Addukten wurden Verfahren auf der Grundlage der Massenspektrometrie (MS) entwickelt, die auf Flüssigkeitschromatographie (LC), Kapillarflüssigkeitschromatographie oder Kapillarelektrophorese (CE) basieren und mit Electrospray-Ionisierung (ESI) und

Tandem-Massenspektrometrie (MS/MS) gekoppelt werden. So wurde zum Beispiel LC-ESI/MS/MS zur strukturellen Charakterisierung von DNA-Addukten verwendet, die durch B[a]P ausgelöst und durch Reaktion von B[a]PDE mit nackter DNA entstanden waren, sowie zur Untersuchung von Zelllinien und Gewebeextrakten von Mäusen nach Exposition gegenüber alkylierenden Substanzen. Diese Verfahren haben jedoch einige Nachteile, wie z. B. den hohen Bedarf an Probenmaterial, die umfangreiche Flüssigkeits-Flüssigkeits-Extraktion, die zeitaufwändige Aufreinigung durch HPLC oder Chromatographie sowie den hohen Preis der Geräte. Außerdem kann der für diese massenspektrometrische Analyse verwendete Gesamtprodukt-Ionenscanmodus wegen der langsamen Scangeschwindigkeit und der geringen Sensitivität in diesem Modus nicht zur Charakterisierung unbekannter DNA-Addukte, die nur in Spuren vorhanden sind, verwendet werden. Alternativ könnte sich die Analyse auf die charakteristischen Retentionszeiten stützen, aber eine Suche mittels »Selected Reaction Monitoring« (SRM) gestattet keine *De-novo*-Identifizierung von DNA-Addukten. Angesichts all dieser Einschränkungen wäre es von großem Interesse, eine empfindliche, genaue und zuverlässige Methode zur molekularen Charakterisierung zur Verfügung zu haben. Zu diesem Zweck hat sich die sog. MALDI-TOF-MS – MALDI steht für Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization – schnell als wertvolles Verfahren zur Analyse eines breiten Spektrums von Molekülen mit Sensitivitäten im Attomol-Bereich entwickelt.

Es wurde daher ein einfaches und zuverlässiges Verfahren entwickelt, das zum Nachweis und zur strukturellen Charakterisierung PAK-induzierter DNA-Addukte MALDI-TOF-MS mit 2,5-Dihydroxybenzoësäure (DHB) als Matrixschicht bei der Probenaufbereitung verwendet. Dieses Verfahren beinhaltet den enzymatischen Verdau von DNA zu 2'-Desoxynukleotiden und daran anschließend ein neues Festphasenextraktionsverfahren zur Entfernung von Salzen und anderen Verunreinigungen vor

der MALDI-MS-Analyse. Durch kollisionsinduzierte Dissoziation (CID) erhält man die strukturell wichtigen Fragmente, die dann eine Charakterisierung der alkylierenden Moleküle und des von Addukten betroffenen Nukleotids ermöglichen. Neben Guanosin-Addukten werden Adenosin- und Zytidin-Addukte, die durch Reaktionen mit (\pm)-anti-Benzo[a]pyren-7,8-diol-9,10-epoxid (B[a]PDE) entstehen, mit einer Empfindlichkeit von < 100 fmol und einer Massengenauigkeit von < 10 ppm identifiziert. Untersuchungen mit (\pm)-anti-Benzo[c]chrysen-9,10-diol-11,12-epoxid (B[c]ChDE) belegen des Weiteren die Vielseitigkeit und den Nutzen dieser Methode. Im Vergleich zum 32 P-Postlabeling-Assay wurden mit MALDI-MS nur Desoxyzytidin- sowie Nukleosid- und Dinukleotid-Addukte identifiziert. Somit erlaubt dieses empfindliche Verfahren die molekulare Beschreibung und Charakterisierung von Nukleotiden, aus denen Addukte hervorgegangen sind, sowie der alkylierenden Substanz, sodass es weitreichende Informationen liefert, die über die Ergebnisse des 32 P-Postlabeling-Assays hinausgehen.

Literatur

Garaguso, I.; Halter, R.; Krzeminski, J.; Amin, S.; Borlak, J. (2010) Method for the rapid detection and molecular characterization of DNA alkylating agents by MALDI-TOF Mass Spectrometry. Analytical Chemistry, 82 (20): 8573-8582



KONTAKT

Prof. Dr. Jürgen Borlak
Telefon +49 511 5350-559
juergen.borlak@item.fraunhofer.de

Vorlaufforschung

NACHWEIS LOKALER GENTOXIZITÄT IN DER LUNGE

ZUSAMMENFASSUNG

Am Fraunhofer ITEM wurde ein *Ex-vivo*-Ansatz etabliert, der die Untersuchung des lokalen gentoxischen Potenzials von luftgetragenen Stoffen an Lungenepithelzellen, also direkt an den Zielzellen der Noxen-induzierten Tumorentwicklung, ermöglicht. Die Methode könnte zukünftig auch im Rahmen von Inhalationsstudien eingesetzt werden, um lokale gentoxische Effekte in der Lunge zu erkennen.

Hintergrund

Die epithelialen Zellen der Lunge sind für viele luftgetragene Fremdstoffe die erste Eintrittspforte in den Körper. Gentoxische Stoffe können dann direkt in diesen Zellen die DNA schädigen und damit zur Entstehung von Lungentumoren beitragen. Solche lokalen Effekte werden allerdings durch systemische Gentoxizitätstests, wie z. B. den *In-vivo*-Mikrokerntest, am Knochenmark oder im peripheren Blut nicht erfasst. Im Rahmen dieses Vorlaufforschungsprojektes wurde daher ein *Ex-vivo*-Ansatz etabliert, der die Untersuchung der Gentoxizität in Alveolarepithelzellen, also Typ II-Pneumozyten, ermöglicht.

Zielsetzung

Das Ziel dieses Versuchsvorhabens war die Etablierung des *Ex-vivo*-Comet-Assays und Mikrokerntests in primären Typ II-Pneumozyten der Ratte. Im gleichen Versuchsansatz wurden Comet-Assay und Mikrokerntest auch in primären Alveolar-makrophagen durchgeführt, um festzustellen, ob diese Zellen als Surrogatmodell eingesetzt werden können. Der alkalische Comet-Assay, ein Indikatortest, der auch als Einzelzell-Gelelektrophorese bezeichnet wird, nutzt die unterschiedliche elektrophoretische Beweglichkeit von DNA-Fragmenten verschiedener Größe, um direkte DNA-Schäden, wie DNA-Strangbrüche auf Einzelzellebene zu detektieren und zu quantifizieren. Der Mikrokerntest dient hingegen zum Nachweis manifester DNA-Schäden, wie Chromosomenschäden oder Schäden des Spin-



delapparates. Mikrokerne bestehen dabei aus Chromosomenfragmenten oder ganzen Chromosomen, die bei der Zellteilung nicht in einen der Tochterzellkerne integriert wurden. Es sind chromatinhaltige, von einer Membran umschlossene Körperchen, die zusätzlich zum normalen Zellkern in der Zelle vorkommen können.

Testsubstanzen

Als Modellsubstanzen wurden DQ12-Quarz und Urethan verwendet. Respirabler (atmbarer) Quarz ist seit 1997 von der International Agency for Research on Cancer (IARC) in die Gruppe I der Karzinogene eingestuft worden. Die chronische Inhalation von hohen Konzentrationen an respirablen Quarzpartikeln steht in direktem Zusammenhang mit unterschiedlichen Lungenkrankheiten wie pulmonaler Fibrose und Lungenkrebs. Urethan gehört zur Stoffgruppe der Carbamate. Es ist unter anderem in fermentierten Nahrungsmitteln und alkoholischen Getränken enthalten. Seit den 40er Jahren ist Urethan als Karzinogen bekannt. Es induziert eine Vielzahl von verschiedenen Tumoren in Nagern, wobei die Lunge eines der Zielorgane ist. Urethan muss im Körper zunächst zu einem gentoxischen Metaboliten verstoffwechselt werden, bevor es seine gentoxische Wirkung entfalten kann. Dabei spielt das Enzym Cytochrom P450 2E1 eine entscheidende Rolle.

Vorgehensweise

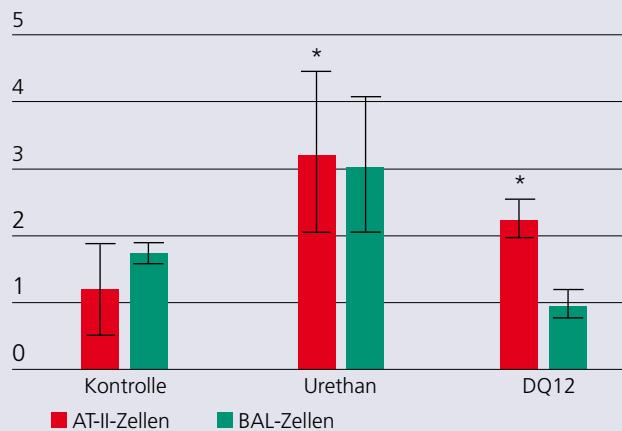
Ratten wurden entweder einmalig intratracheal mit 0,2 mg/Tier DQ12-Quarz oder an vier aufeinanderfolgenden Tagen mit 300 mg/kg/Tag Urethan intraperitoneal behandelt. Drei Tage nach der letzten Behandlung wurde eine bronchoalveolare Lavage (BAL) durchgeführt und anschließend wurden Typ II-Pneumozyten isoliert. In der BAL wurden Laktatdehydrogenase (LDH)-Aktivität, Gesamtproteininhalt und β -Glucuronidase-Aktivität als Entzündungsmarker untersucht.

Abb. 1: Ergebnisse des alkalischen Comet-Assays mit frisch isolierten Typ II-Pneumozyten (AT-II-Zellen) und Alveolarmakrophagen aus der bronchoalveolären Lavage (BAL-Zellen)

Die Ratten wurden zuvor mit 300 mg/kg/Tag Urethan intraperitoneal behandelt oder erhielten 0,2 mg DQ12 als Einzeldosis intratracheal. Kontrolltiere wurden mit einem identischen Volumen 0,9 % NaCl i.p. behandelt. Drei Tage nach der letzten Applikation wurden Typ II-Pneumozyten und Alveolarmakrophagen gewonnen. Gezeigt sind Mittelwert und Standardabweichungen von 8 (Kontrolle und Urethan) bzw. 6 (DQ12) Ratten. Eine Erhöhung des Tail-Moments im Comet-Assay ist mit der Induktion von DNA-Schäden gleichzusetzen.

* Signifikanter Unterschied zur Kontrollgruppe ($p \leq 0,05$, Student's *t*-Test für ungepaarte Werte)

Tail-Moment



Die durch die Testsubstanzen möglicherweise verursachten DNA-Brüche/alkalilabilen Stellen wurden mit Hilfe des alkalischen Comet-Assays in Typ II-Pneumozyten und Alveolarmakrophagen untersucht. Chromosomen- bzw. Genommutationen wurden mit Hilfe des Mikrokerntests in Typ II-Pneumozyten, Alveolarmakrophagen und in Erythrozyten des Knochenmarks detektiert.

Ergebnisse

Mittels des alkalischen Comet-Assays konnte eine signifikante Erhöhung an DNA-Schäden in den Typ II-Pneumozyten der DQ12- und Urethan-Gruppe gefunden werden. Ein vermehrtes Auftreten von Mikrokernen konnte ausschließlich im *In-vivo*-Mikrokerntest im Knochenmark der DQ12-Gruppe nachgewiesen werden. Die Entzündungsmarker LDH, Gesamtprotein und β -Glucuronidase waren in der BAL-Flüssigkeit von DQ12-behandelten Ratten signifikant erhöht, während bei den Urethan-behandelten Tieren keine Hinweise auf eine Entzündungsreaktion in der Lunge gefunden wurden.

Schlussfolgerung

In dieser Studie konnte zum ersten Mal eine direkte, DNA-schädigende Wirkung von Urethan in primären Typ II-Pneumozyten gezeigt werden und somit eine lokale Gentoxizität der Substanz in der Lunge. Dieser Effekt basierte dabei offensichtlich nicht auf einer Entzündungsreaktion.

Ausblick

Der *Ex-vivo*-Comet-Assay könnte zukünftig auch im Rahmen von Inhalationsstudien eingesetzt werden, um lokale gentoxische Effekte in der Lunge und speziell in Typ II-Pneumozyten zu untersuchen.

Literatur

Bachelorarbeit Julia Reinke (2010)
Ex-vivo-Comet Assay und Mikrokerntest an primären Typ II-Zellen der Ratte



KONTAKT

Dr. Tanja Hansen
Telefon +49 511 5350-226
tanja.hansen@item.fraunhofer.de



Dr. Christina Ziemann
Telefon +49 511 5350-203
christina.ziemann@item.fraunhofer.de

Geschäftsfeld 1

PROJEKTÜBERSICHT

Immunoökologische Bewertung von Metallen	Testung von Arzneimitteln in Maus- und Rattenmodellen der LPS-induzierten Entzündung	Charakterisierung von Bakteriophagen als pharmazeutische Wirkstoffe
Wirksamkeit von Biopharmaka bei Primaten	Testung pflanzlicher Arzneimittel in Entzündungsmodellen	Entwicklung einer generischen GMP-Herstellungsplattform für rekombinante Antikörper auf der Basis von mikrobiellen oder Säugerzellkulturen
Immunoxin-gesteuerte Verminderung von Zellpopulationen in verschiedenen Spezies (Primaten, Mäuse)	<i>In-vivo- und Ex-vivo-Bildgebung</i> der Immunantwort mit dem 2-Photonen-Mikroskop	Entwicklung einer generischen GMP-Herstellungsplattform für Nukleinsäuren/DNA
Bewertung der Toxizität von luftgetragenen Schadstoffen in vitalen Lungenschnitten (»precision-cut lung slices«)	Sicherheitspharmakologie der Lunge	Aufbau einer aseptischen Anlage zur GMP-konformen Herstellung von Infusionsbeuteln
Testung von Arzneimitteln in Asthmamodellen der Maus und der Ratte einschließlich Lungenfunktionsmessung	Testung von bronchodilatorisch wirksamen Pharmaka	Wirkung von Nanopartikeln in der Lunge
Testung von Arzneimitteln in Infektionsmodellen	Entwicklung von GMP-Herstellungsverfahren für Bakteriophagen	Etablierung von GMP-konformen Arbeitsabläufen zur Belieferung der Abteilung Klinische Atemwegsforschung mit Provokationssubstanzen für klinische Studien

GESCHÄFTSFELD 2

KLINISCHE ATEMWEGSFORSCHUNG



Projektberichte

Exalierte Partikel für die Diagnostik und Verlaufs-kontrolle von Lungen-erkrankungen

Surfactant-Protein D als Biomarker

Vorlaufforschung

EU-Projekt Eva: Emphysem versus Atem-wegserkrankung

Smart Nose®: eine elektro-nische Nase analysiert die Ausatemluft

Zelltherapie bei Asthma

Im Geschäftsfeld Klinische Atemwegsforschung werden klinische Studien zur Wirksamkeitsprüfung neuer Pharmaka, zur Entwicklung neuer Biomarker und zur Beurteilung des Gefährdungspotenzials durch Luftschadstoffe durchgeführt. Das Fraunhofer ITEM kooperiert dabei eng mit der Medizinischen Hochschule Hannover und arbeitet mit Industrie-unternehmen und verschiedenen Forschungsein-richtungen zusammen.

Schwerpunkt dieses Geschäftsfelds sind klinische Arzneimittelstudien. Es werden klinisch-pharmako-logische Probanden- und Patientenstudien zu Fragen der Wirksamkeit und Sicherheit neuer antiobstruk-tiver und antiallergischer Medikamente unter Be-dingungen der »Good Clinical Practice« durchge-führt. Die Abteilung konzentriert sich auf die Kon-zeption und Durchführung von frühen klinischen Studien (Phase I und II). Um unter kontrollierter Allergenprovokation die Wirksamkeit von neuen Antiallergika bei Patienten mit Heuschnupfen zu überprüfen, wird in Zusammenarbeit mit der Abtei-lung Aerosoltechnologie ein Pollen-Inhalationsraum betrieben, die so genannte Fraunhofer Environmen-tal Challenge Chamber, kurz Fraunhofer ECC. Dieser

Raum wird zukünftig auch für Tests mit anderen Allergenen – wie Hausstaub, Katzenhaare oder Birkenpollen – eingesetzt werden können. Bronchoskopische Untersuchungen nach Inhalation oder Instillation von Allergenen, Endotoxin oder Medikamenten sind ein weiterer Schwerpunkt der klinischen Forschungsaktivitäten. Weltweit verfügen nur wenige Institutionen über vergleichbares Know-how und technische Möglichkeiten.

Im Rahmen eines Sonderforschungsbereichs der DFG (SFB 587 »Immunreaktionen der Lunge bei Infektion und Allergie«) werden klinische Forschungsprojekte bearbeitet, die sich mit der allergischen Entzündung in der Lunge und ihrer Wechselwirkung mit dem endogenen Surfactantsystem bzw. mit exogenen Umweltstäuben beschäftigen.

Das Geschäftsfeld zeichnet sich durch einen hohen technischen Standard und fachliche Kompetenz aus und stützt sich zurzeit auf die folgenden Kernkompetenzen: pneumologische und allergologische Forschungsmethoden, klinische Arzneimittelprüfungen für die Indikationen Allergie, Asthma und COPD sowie Aerosolverfahrenstechnik und Aerosolanalytik.

KONTAKT



Prof. Dr. med. Norbert Krug
Telefon +49 511 5350-602
norbert.krug@item.fraunhofer.de



Prof. Dr. med. Jens Hohlfeld
Telefon +49 511 5350-604
jens.hohlfeld@item.fraunhofer.de

Projektbericht

EXHALIERTE PARTIKEL FÜR DIE DIAGNOSTIK UND VERLAUFSKONTROLLE VON LUNGENERKRANKUNGEN

ZUSAMMENFASSUNG

Die Atemgasanalyse spielt in der Diagnostik der Lungenerkrankungen eine große Rolle. Bisher nicht ausreichend validiert ist die Bestimmung der Partikel, die nicht-dampfförmig als Mikrotröpfchen abgeatmet werden. In einem interdisziplinären Projekt am Fraunhofer ITEM untersuchen die Wissenschaftler nun die Grundlagen der Aerosolentstehung in der Lunge und die Muster in der Atemluft. Dabei werden die Partikelemission und -größenverteilung für verschiedene Krankheitsbilder ermittelt. Ziel ist es, die Analytik exhalierter Partikel für Diagnostik und Verlaufskontrolle von Lungenerkrankungen einsetzen zu können.

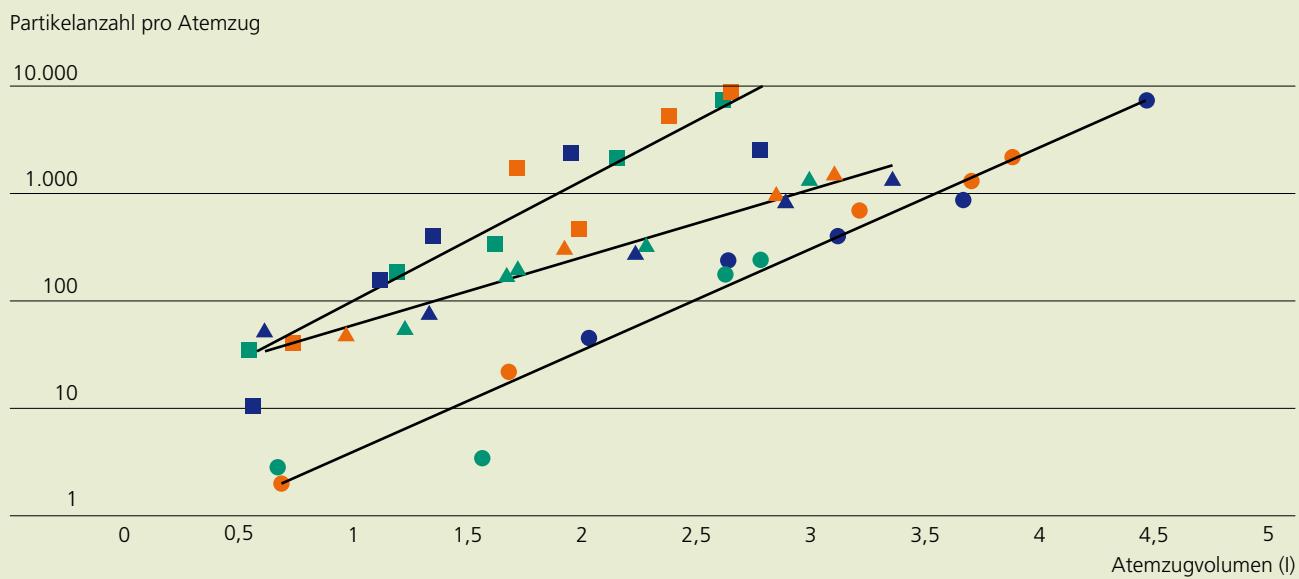
Einleitung

Die nicht-invasive Diagnostik der Atemwegsentzündung spielt in der Atemwegsforschung eine herausragende Rolle. Während die Bestimmung gasförmiger Botenstoffe wie z.B. Stickstoffmonoxid (NO) für die Diagnostik und Verlaufsbeurteilung des Asthma bronchiale technisch etabliert ist und Eingang in die klinische Routine gefunden hat, ist die Bestimmung nicht-volatiler Moleküle in der Ausatemluft technisch herausfordernd und daher bislang nicht ausreichend validiert. Diese nicht-dampfförmigen Moleküle werden über Mikrotröpfchen der Lungenflüssigkeit aus der Lunge abgeatmet. Bislang wurden sie zusammen mit dem in der Ausatemluft vorhandenen Wasserdampf in einer Kühlfalle abgeschieden (Atemkondensat). Hierdurch kommt es aber zu einer erheblichen Verdunstung der nur in Spuren vorliegenden nicht-volatilen Biomarker, sodass eine Standardisierung der Probenahme und Validierung der Analytik bislang nicht gelungen ist. Für eine zukünftige Standardisierung der Analytik nicht-volatiler Biomarker ist es von entscheidender Bedeutung, die Entstehung von Aerosolen in der menschlichen Lunge besser zu verstehen sowie Einflussgrößen auf die Aerosolmenge (Atemmuster, Lungenfunktion) zu klären.



Experimenteller Aufbau für die Charakterisierung endogen generierter exhalierter Aerosole

Abb. 1: Anzahl der exhalierten Partikel pro Atemzug als Funktion des Atemzugvolumens für drei gesunde Probanden. Die unterschiedlichen Symbole (Kreis, Dreieck, Viereck) charakterisieren die verschiedenen Probanden, die unterschiedlichen Farben (rot, grün, blau) kennzeichnen die drei verschiedenen Messungen für jeden Probanden und zeigen eine gute intra-individuelle Reproduzierbarkeit.



Forschungsprojekt

Im Rahmen eines interdisziplinären Forschungsprojektes, welches von der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Deutschen Zentrum für Luft- und Raumfahrt gefördert wird, wird die Aerosolentstehung und der -transport in der menschlichen Lunge systematisch untersucht mit dem Ziel, ein valides Verfahren für die Analytik nicht-volatiler Biomarker zu entwickeln. Hierzu wurden theoretische Berechnungen der Partikelgröße beim Aufplatzen eines Surfactant-haltigen Films durchgeführt und mit der beim Menschen gemessenen Partikelgröße verglichen. Übereinstimmend ergaben sowohl die

theoretischen Untersuchungen als auch die Messdaten eine Partikelgrößenverteilung überwiegend im submikronen Größenbereich. Weiterhin wurden der Anzahlstrom und die Partikelgrößenverteilung der Ausatemluft bei 16 Probanden in Abhängigkeit des Atemmusters systematisch untersucht. Die Messung der Partikelanzahl erfolgte mit einem Kondensationskernzähl器 und die Größenverteilung wurde mit einem Laser-Spektrometer gemessen, während die Probanden definierte Atemmuster durchführten. Darüber hinaus wurde die intra- und die interindividuelle Variabilität bestimmt. Es zeigte sich mit steigender Atemtiefe eine exponentielle Zunahme der Partikelanzahl. Während das geatmete Volumen ein dominanter

Einflussfaktor war, hatten Flussänderungen keinen Einfluss auf den Partikelanzahlstrom. Die intraindividuelle Reproduzierbarkeit der Partikelemission war sehr hoch. Es fanden sich aber erhebliche Unterschiede zwischen den untersuchten Probanden. Weiterhin fand sich eine Korrelation zwischen der Partikelanzahl und der Lage des Zwerchfells. Die gefundene exponentielle Abhängigkeit des Partikelanzahlstroms von der Atemtiefe und der Zwerchfelllage spricht für die Wiedereröffnung verschlossener kleiner Atemwege.

Ausblick

Die erhobenen Daten haben unmittelbare Bedeutung für die weitere Entwicklung der partikelbasierten Diagnostik der Ausatemluft beim Menschen, weil die erheblichen interindividuellen Unterschiede die Notwendigkeit einer weiteren Standardisierung anhand des Anzahlstroms nahe legen. So kann in Kenntnis der individuellen Partikelemission ein Korrekturfaktor eingeführt werden. Neben der verbesserten Standardisierung kann durch die Messung der Partikelanzahl bei lungenkranken Patienten, bei denen die Wahrscheinlichkeit für einen peripheren Atemwegsverschluss erhöht ist (z. B. Bronchiolitis), möglicherweise die Partikelanzahl diagnostische Aussagekraft erlangen. Im laufenden Projekt werden die Partikelemission und Partikelgrößenverteilung bei verschiedenen Krankheitsbildern und Zustandsänderungen der Atemwege (experimentelle Obstruktion) untersucht. Das langfristige Ziel ist die Etablierung einer partikelbasierten Analytik für die Diagnostik und Verlaufskontrolle von Lungenerkrankungen.

Originalveröffentlichungen

Haslbeck, K.; Schwarz, K.; Hohlfeld, J. M.; Seume, J. R.; Koch, W. (2010)

Submicron droplet formation in the human lung. In: Journal of Aerosol Science 41: 429-38

Schwarz, K.; Biller, H.; Windt, H.; Koch, W.; Hohlfeld, J. M. (2010)

Characterization of exhaled particles from the healthy human lung – a systematic analysis in relation to pulmonary function variables. In: Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery 23 (6): 371-9

KONTAKT



Prof. Dr. med. Jens Hohlfeld
Telefon +49 511 5350-604
jens.hohlfeld@item.fraunhofer.de



Prof. Dr. Wolfgang Koch
Telefon +49 511 5350-117
wolfgang.koch@item.fraunhofer.de

Projektbericht

SURFACTANT-PROTEIN D ALS BIOMARKER

Einleitung

ZUSAMMENFASSUNG

Das pulmonale Surfactant-System spielt eine wichtige Rolle bei verschiedenen Lungenerkrankungen. In der Klinischen Atemwegsforschung des Fraunhofer ITEM werden die Zusammenhänge zwischen dem Surfactant und Erkrankungen wie Asthma bronchiale und COPD erforscht. In einer klinischen Studie mit 15 Asthma-Patienten konnten nun die Beziehungen zwischen einzelnen Komponenten des Surfactant-Systems und dem Schweregrad der Entzündung verfolgt werden. Gefunden wurde dabei ein Biomarker, der schweres Asthma bronchiale anzeigt.

Das pulmonale Surfactant-System kleidet die innere Oberfläche der Lunge aus und bewirkt durch seine oberflächenaktive Wirkung eine Stabilisierung. Das Atemnotsyndrom beim unreifen Neugeborenen ist auf einen Mangel an pulmonalem Surfactant zurückzuführen und die Surfactant-Ersatztherapie hat ganz erheblich zur eindrucksvollen Reduktion der Mortalität dieser Erkrankung beigetragen, sodass heute Frühgeborene unter 500 g Geburtsgewicht eine Überlebenschance haben. Neben der Lungenunreife mit einem quantitativen Surfactant-Mangel gibt es eine Reihe von Lungenerkrankungen über das Kindesalter hinaus, bei denen Veränderungen des Surfactant-Systems beschrieben sind. Hier sind das akute Atemnotsyndrom des Erwachsenen und die Lungenfibrose zu nennen. Die mögliche Beteiligung des Surfactant-Systems bei obstruktiven Lungenerkrankungen, wie dem Asthma bronchiale und der chronisch-obstruktiven Lungenerkrankung, wird am Fraunhofer ITEM seit vielen Jahren erforscht.

Hintergrund

Surfactant besteht zu zwei Dritteln aus Phospholipiden, die durch ihren polaren Charakter eine molekulare Ordnung an der Luft-Flüssigkeits-Grenze bewirken und so die Oberflächenspannung der Grenzfläche reduzieren. Die biophysikalische Funktion von Surfactant wird unterstützt durch die hydrophoben Surfactant-Proteine SP-B und SP-C, welche die Sortierung und Orientierung der Phospholipide beeinflussen. Neben den hydrophoben Surfactant-Proteinen gibt es die hydrophilen Surfactant-Proteine SP-A und SP-D. Diese komplex gebauten

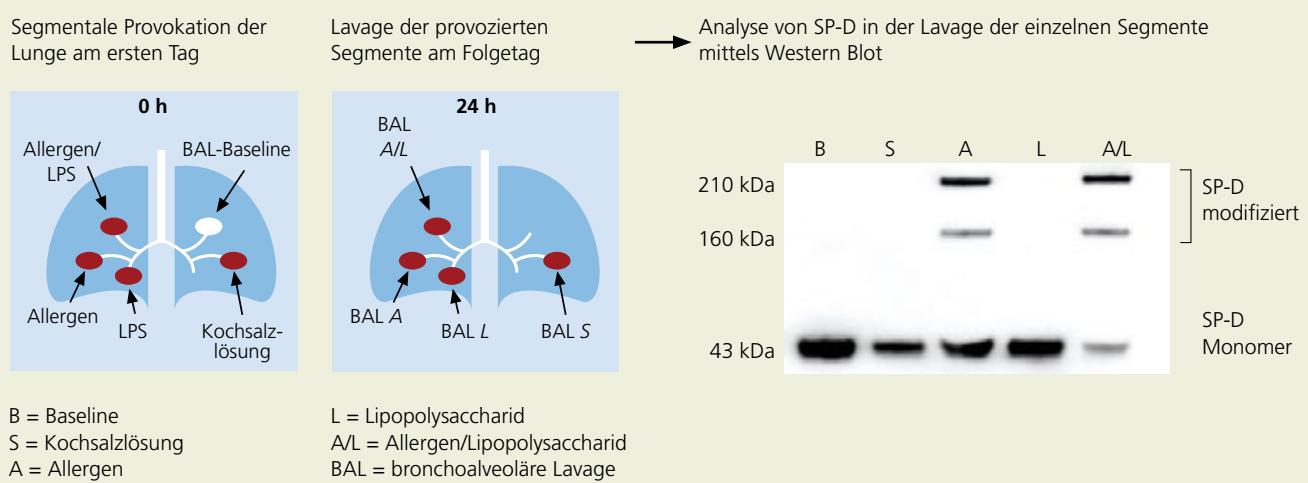
Proteine bestehen aus mehreren Untereinheiten, die sich auf jeweils charakteristische Weise zusammenlagern und über ihre Zucker-bindenden Domänen mit Erregern wie Viren, Bakterien und Pilzen interagieren. SP-A und SP-D tragen dadurch ganz wesentlich zur unspezifischen Abwehr der Lunge bei. SP-D bindet darüber hinaus an Allergene und erhöht die Aufnahme dieser Proteine in Makrophagen. SP-D bewirkt im Tiermodell des allergischen Asthmas eine Reduktion der Atemwegsentzündung, eine Besserung der bronchialen Überempfindlichkeit sowie eine Hemmung der Obstruktion. Sowohl im Tier als auch bei Patienten mit Asthma kommt es im Rahmen der allergischen Atemwegsentzündung zur Erhöhung der pulmonalen SP-D-Spiegel, was als Gegenregulation zur Eindämmung der allergischen Entzündung verstanden werden kann. Da es im Rahmen der allergischen Entzündung zusätzlich zu oxidativem und nitrosativem Stress kommt, stellt sich die Frage, ob das SP-D dadurch posttranslational modifiziert wird und welche

funktionellen Konsequenzen für die allergische Entzündung damit einhergehen.

Klinische Studie

In einer klinischen Studie an 15 Patienten mit Asthma bronchiale wurde mittels segmentaler Provokation in mehreren Segmenten der Lunge im Rahmen einer Bronchoskopie eine lokale Entzündung induziert, die entweder nur Allergen-vermittelt, nur Endotoxin-vermittelt oder durch Kombination von Allergen und Endotoxin vermittelt war. Hierdurch konnte zum einen ein unterschiedlicher Schweregrad der Entzündung und zum anderen eine unterschiedliche Art der Entzündung ausgelöst und untersucht werden. In der gewonnenen bronchoalveolären Lavage (BAL) konnten dann quantitative und qualitative Veränderungen von SP-D untersucht werden.

Abb. 1: Die Analyse von SP-D zeigt, dass nach Allergenprovokation modifiziertes SP-D auftritt, welches somit ein Biomarker für schweres Asthma bronchiale sein kann.



Ergebnisse

Es zeigte sich, dass es im Rahmen der Allergen-induzierten Entzündung, nicht aber nach Endotoxin-vermittelter Entzündung, zu einer Vernetzung des SP-D kam. Das Auftreten betraf nur die Hälfte der Patienten und war abhängig von der lokalen Entzündungsschwere. Da diese veränderten Formen des SP-D mit der Schwere der Entzündung und verschiedenen Botenstoffen korrelierten, kann das modifizierte SP-D als Biomarker für das schwere Asthma bronchiale angesehen werden. Zusätzlich kam es durch die Vernetzung des SP-D zum Funktionsverlust des Proteins. Wir schließen daraus, dass es im Rahmen der allergischen Entzündung zwar zu einem Anstieg des SP-D kommt. Allerdings geht die antientzündliche Wirkung durch den Funktionsverlust im Rahmen der Vernetzung des SP-D verloren. Durch diese Erkenntnis ist es gerechtfertigt nach Wegen zu suchen, die eine Allergen-induzierte post-transkriptionale Modifikation von SP-D verhindern.

Originalveröffentlichung

Atochina-Vasserman, E. N.; Winkler, C.; Abramova, H.; Schaumann, F.; Krug, N.; Gow, A. J.; Beers, M. F.; Hohlfeld, J. M. (2010)
Segmental allergen challenge alters multimeric structure and function of Surfactant Protein D in humans. In: American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, Dec 3 (Epub)



KONTAKT

Prof. Dr. med. Jens Hohlfeld
Telefon +49 511 5350-604
jens.hohlfeld@item.fraunhofer.de

Vorlaufforschung

EU-PROJEKT EVA: EMPHYSEM VERSUS ATEMWEGSERKRANKUNG

Weltweit ist die chronisch-obstruktive Lungenerkrankung COPD gegenwärtig die vierhäufigste Todesursache. Für die nächsten Jahrzehnte ist ein weiterer Anstieg der Häufigkeit sowie der Schwere der Erkrankung zu erwarten, sodass die COPD im Jahr 2020 voraussichtlich unter den häufigsten Todesursachen auf Platz 3 sein wird.

Bis heute sind hinsichtlich des Erkrankungsmechanismus viele Fragen offen. Die COPD kann zwei Ausprägungen zeigen: das Lungenemphysem mit einer krankhaft überblähten Lunge und



die chronische Bronchitis als eine Entzündung der Atemwege. Um das Verständnis dieser Erkrankung, ihrer Ausprägungen und deren Therapie entscheidend zu verbessern, sollen bei der sogenannten EvA-Studie – EvA steht für Emphysem

versus Atemwegserkrankung – neue Marker zur Diagnostik der COPD definiert werden.

Die Studie wird von der Europäischen Union (EU) gefördert und unter der Leitung des Helmholtz Zentrums München durchgeführt. In insgesamt neun europäischen Ländern nehmen 14 Studienzentren teil, die Zentren in Deutschland sind Hannover, München, Marburg und Freiburg. Insgesamt sollen 900 Patienten mit einer COPD untersucht werden. Darüber hinaus sollen 150 gesunde Kontrollpersonen bis Dezember 2011 eingeschlossen werden.

Die Studie am Fraunhofer ITEM läuft seit August 2009 in Kooperation mit der Abteilung Pneumologie der Medizinischen Hochschule Hannover (MHH) unter der Leitung von Prof. Dr. med. Tobias Welte. Es sollen 90 Exraucher mit einer COPD sowie 30 gesunde Exraucher eingeschlossen werden. Im Rahmen dieser Studie werden bei den Studienteilnehmern Blutentnahmen, Lungenfunktionsprüfungen, eine Überprüfung der Belastbarkeit, eine Lungenspiegelung sowie eine Computertomographie der Lunge durchgeführt.

Ziel der EvA-Studie ist es, spezifische Marker (unter anderem Gene im Erbmaterial oder bestimmte Proteine in der Lunge) zu lokalisieren, die zur Klärung der unterschiedlichen Ausprägung der Erkrankung COPD beitragen können. Auf diese Weise ergeben sich möglicherweise auch neue Ansatzpunkte für die Behandlung.



KONTAKT

Dr. Cornelia Faulenbach
Telefon +49 511 5350-612
cornelia.faulenbach@item-extern.fraunhofer.de



Dr. med. Mahyar Lavae-Mokhtari
(Medizinische Hochschule Hannover)
Telefon +49 511 532-5564
lavae-mokhtari.mahyar@mh-hannover.de

Eignet sich die SMart Nose® für die klinische Anwendung? Der ITEM-Wissenschaftler Olaf Holz (im Bild) testet ein Gerät, mit dem flüchtige Substanzen in der Ausatemluft analysiert werden. Die Methodik könnte in Zukunft bei der Diagnose von Atemwegserkrankungen helfen.



Vorlaufforschung

SMART NOSE®: EINE ELEKTRONISCHE NASE ANALYSIERT DIE AUSATEMLUFT

Die Abteilung Klinische Atemwegsforschung entwickelt Methoden, um die Entzündung in den Atemwegen möglichst genau zu erfassen. Es bestehen umfangreiche Erfahrungen mit allen heute zur Verfügung stehenden Methoden, die als validierte Endpunkte sowohl in klinischen Studien als auch für die Grundlagenforschung eingesetzt werden. Das Spektrum reicht von der Bronchoskopie über die Sputum-Analytik, das heißt die Untersuchung des abgehusteten Schleims, bis hin zur Analyse von Stickstoffmonoxid in der Ausatemluft.

Zu den Methoden der Wahl gehören auch die sogenannten elektronischen Nasen, mit denen simultan eine Vielzahl von flüchtigen Substanzen in der Ausatemluft erfasst werden kann. In einer aktuellen Studie testeten Wissenschaftler am Fraunhofer ITEM die »SMart Nose®«, die auf dem Prinzip der Massenspektrometrie beruht und bislang noch nicht im medizinischen Bereich eingesetzt wurde. Ziel war es, eine geeignete Messmethodik für klinische Proben zu entwickeln und dann nach Substanzmustern zu suchen, die für bestimmte Atemwegserkrankungen typisch sind.

Dazu wurden 90 freiwillige Probanden mit unterschiedlichen Erkrankungen der Atemwege untersucht. Bislang konnten anhand der Ergebnisse die Substanzmuster in der Ausatemluft von Rauchern und Nichtrauchern statistisch getrennt werden. Außerdem wurden mit den gefundenen Algorithmen auch Proben von Patienten mit unbekanntem Raucher/Nichtraucher-Status korrekt klassifiziert. Dies reicht für einen sinnvollen Einsatz in der klinischen Forschung allerdings noch nicht aus. Die Wissenschaftler wollen die Messmethodik weiter optimieren, damit die SMart Nose® in Zukunft auch zwischen anderen Ausprägungen der Atemwegsentzündung unterscheiden kann.



KONTAKT

Olaf Holz
Telefon +49 511 5350-323
olaf.holz@item.fraunhofer.de

Vorlaufforschung

ZELLTHERAPIE BEI ASTHMA

ZUSAMMENFASSUNG

In den vergangenen Jahren konnte die immunologische Grundlagenforschung zeigen, dass bestimmte regulatorische Zellen des Immunsystems – regulatorische T-Zellen (Tregs) und plasmazytoiden dendritischen Zellen (pDCs) – in der Lage sind, die allergische Entzündungsreaktion in der Lunge zu unterdrücken. Damit eröffnen sich neue Ansätze für eine Zelltherapie bei Asthma bronchiale. Die Herausforderung besteht nun darin, das Potenzial dieses zelltherapeutischen Verfahrens in klinischen Proof-of-Concept-Studien zu zeigen und es für die medizinische Anwendung nutzbar zu machen. Hierzu ist eine enge Kooperation zwischen akademischen, klinischen und industriellen Partnern notwendig.

Konzept

In einer klinischen Proof-of-concept-Studie am Fraunhofer ITEM ist geplant, die allergische Entzündung bei Asthma-Patienten durch eine bronchiale Applikation von regulatorischen T-Zellen (Tregs) oder plasmazytoiden dendritischen Zellen (pDCs) zu unterdrücken. Hierbei wird das etablierte Modell der segmentalen bronchoskopischen Allergenprovokation genutzt, um eine begrenzte allergische Entzündung auszulösen. Durch eine zusätzliche Gabe der regulatorischen Zellen zu dem Allergen in einem zweiten Lungenabschnitt auf der kontralateralen Seite kann die antientzündliche Wirkung dieser Immunzellen innerhalb eines Patienten untersucht werden.

Isolierung der Zellen unter GMP-Bedingungen

Die Isolierung der körpereigenen regulatorischen Immunzellen erfolgt aus dem Blut mit magnetischen Mikrokügelchen, an die Antikörper gegen spezifische Oberflächenstrukturen der Zielzellen gekoppelt sind. Um eine GMP-konforme Isolierung dieser Zellen und damit größte Reinheit für die klinischen Studien zu gewährleisten, erfolgt dieser Herstellungsprozess durch das Zellseparationssystem CliniMACS® der Firma Miltenyi Biotec. Dieses Zellseparationssystem ist bisher als einziges System für die Isolation von Zellen zur Anwendung am Menschen zugelassen.

Interdisziplinäres Kompetenz-Cluster aus Fraunhofer und MHH

Gemeinsam mit der Abteilung Immunologie, Allergologie und Immunoökologie des ITEM werden notwendige präklinische

Daten mit Hilfe humaner *In-vitro*-Allergiemodelle bzw. geeigneter Tiermodelle generiert. Die nach dem Arzneimittelgesetz (AMG) für die klinische Studie notwendige GMP-konforme Isolierung der Zielzellen erfolgt in Zusammenarbeit mit der GMP-Entwicklungseinheit des Integrierten Forschungs- und Behandlungszentrums Transplantation der Medizinischen Hochschule Hannover (MHH). Die notwendige fachgerechte Gewinnung von autologen Leukozyten aus dem zirkulierenden Blut im Rahmen einer Zellseparation (Leukapherese) wird in Kooperation mit dem Zentrum für Transfusionsmedizin der MHH durchgeführt.

Aktueller Stand

Zurzeit werden in einer Pilotstudie bei Patienten mit allergischer Rhinitis *In-vitro*-Daten gewonnen, um die klinische Studie bei der zuständigen Bundesoberbehörde (Paul-Ehrlich-Institut) zur Genehmigung einzureichen. Um die Herstellserlaubnis für die regulatorischen Immunzellen bei der lokalen Aufsichtsbehörde beantragen zu können, wird in der GMP-Entwicklungseinheit der MHH der GMP-konforme Herstellungsprozess der Zielzellen validiert.

Förderung

Dieses Projekt wird als klinisches Teilprojekt (B9) des Sonderforschungsbereiches 587 »Immunreaktionen der Lunge bei Infektion und Allergie« von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) gefördert.



KONTAKT

Dr. med. Frank Schaumann
Telefon +49 511 5350-680
frank.schaumann@item.fraunhofer.de

Geschäftsfeld 2

PROJEKTÜBERSICHT

Untersuchungen zur Sicherheit und Wirksamkeit eines pflanzlichen Präparats bei Patienten mit Heuschnupfen in der »Fraunhofer Environmental Challenge Chamber«	Untersuchungen zur Wirksamkeit eines entzündungshemmenden Präparats bei Patienten mit Asthma
Untersuchungen zur Sicherheit und Wirksamkeit inhalativ verabreichter Bronchodilatoren bei Patienten mit COPD	Untersuchung des Einflusses der Gravitation auf den exhalieren Anzahlstrom von in der Lunge generierten endogenen Aerosolpartikeln
Untersuchungen zur Sicherheit und Wirksamkeit eines Chemokin-Antagonisten bei Patienten mit COPD durch endobronchiale Endotoxinprovokation	Weiterentwicklung eines Systems zur Aerosolisierung und kontrollierten inhalativen Applikation von Lungs-surfactant
Charakterisierung von Partikeln in der Ausatemluft von Patienten mit Asthma und COPD	Etablierung einer universellen Methode zur inhalativen Provokation von Probanden gegenüber Umwelt- und Innenraumallergenen
Bronchoskopische Gewinnung von Entzündungszellen aus den Atemwegen von Patienten mit Asthma	

GESCHÄFTSFELD 3

GEWERBE-, UMWELTTOXIKOLOGIE UND VERBRAUCHERSCHUTZ



GEWERBE-, UMWELTTOXIKOLOGIE UND VERBRAUCHERSCHUTZ

Projektberichte

**Nanomaterialien auf
dem Prüfstand**

**Ableitung von Grenz-
werten bei Inhalation**

**Lokale Gentoxizität in
der Lunge**

Im Geschäftsfeld Gewerbe-, Umwelttoxikologie und Verbraucherschutz werden Chemikalien, Partikel, einschließlich Nanopartikel, und komplexe Gemische untersucht, wie sie am Arbeitsplatz, in der Umwelt und in Verbraucherprodukten auftreten. Profunde Kenntnisse in der Inhalationstoxikologie, der Aerosolverfahrenstechnik, der chemischen Analytik und der toxikologischen Pathologie zeichnen dieses Geschäftsfeld aus. Die notwendigen Untersuchungen werden am Fraunhofer ITEM in Übereinstimmung mit nationalen und internationalen Prüfvorschriften sowie nach den Grundsätzen der »Good Laboratory Practice« (GLP) durchgeführt.

Für die Registrierung von Stoffen ist eine Vielzahl von gesetzlichen Auflagen zu berücksichtigen, die das Einführen neuer Produkte sowie Nachuntersuchungen von Altstoffen regeln. In vielen Fällen besteht der Bedarf, neue Produkte oder Produktionsverfahren zu untersuchen oder generell die Belastung von Innenräumen durch Schadstoffe zu prüfen. In diesem Zusammenhang bildet die Entwicklung neu-

er Verfahren zur Messung von luftgetragenen Schadstoffen einen weiteren Forschungsschwerpunkt. Physisch-chemische und biologische Modelle helfen, Wirkstoffe und deren Persistenz in Baumaterialien, Innenausstattungen und Verbraucherprodukten zu ermitteln. Weiterhin werden am Fraunhofer ITEM mathematische Simulationsmodelle zur Expositionsschätzung entwickelt.

Immunologische Tests erfassen sensibilisierende und immunmodulierende Wirkungen. Ein mögliches irritatives Potenzial von Chemikalien und Umweltschadstoffen auf die Atemwege wird mit Hilfe von verschiedenen validierten *In-vitro*- und ggf. Tiermodellen festgestellt. Umfangreiche *In-vitro*-Testverfahren stehen sowohl zur Abschätzung des gentoxischen Potenzials als auch als Screening-Methoden und zur Reduzierung von Tierversuchen zur Verfügung. In den »Environmental Challenge Chambers« der klinischen Einheit des Instituts werden für spezifische Fragestellungen zur Umwelt- und Arbeitsplatztoxikologie auch Probandenstudien durchgeführt.

KONTAKT



Prof. Dr. Clemens Dasenbrock
Telefon +49 511 5350-408
clemens.dasenbrock@item.fraunhofer.de



Prof. Dr. Wolfgang Koch
Telefon +49 511 5350-117
wolfgang.koch@item.fraunhofer.de

1 *Lungengewebe der Maus mit Carbon-Black-Partikeln (in Makrophagen eingeschlossen)*

2 *Nanoröhren: Dicke Kohlenstoff-Nanoröhren im Elektronenmikroskop. Copyright: Leonhardt, Leibniz-Institut Dresden*

Projektbericht

NANOMATERIALIEN AUF DEM PRÜFSTAND

ZUSAMMENFASSUNG

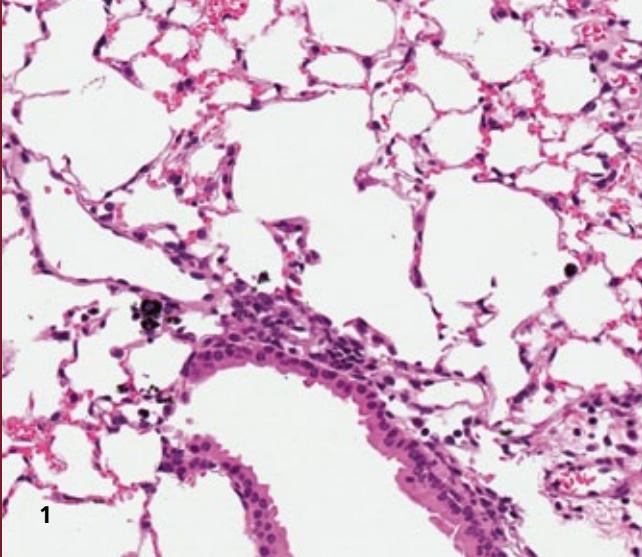
Mit »NanoCare« hat das Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) ein Förderprogramm ins Leben gerufen, das einen verantwortungsvollen Umgang mit Nanomaterialien zum Ziel hat. Im Rahmen dieses Programms werden seit 2010 auch zwei Forschungsverbünde gefördert, an denen das Fraunhofer ITEM beteiligt ist. Im Verbund »CarbonBlack« geht es um die Risiken von Industriaruß, im Projekt »CarboTox« werden die Wissenschaftler in den kommenden Jahren das kanzerogene Potenzial von faserartigen Kohlenstoff-Nanoröhren (Carbon Nanotubes, CNT) untersuchen. In beiden Fällen ist das Ziel der Forscher, Screening-Verfahren zu entwickeln, die eine Produktion von gesundheitlich unbedenklichen Nanomaterialien möglich machen.

Einleitung

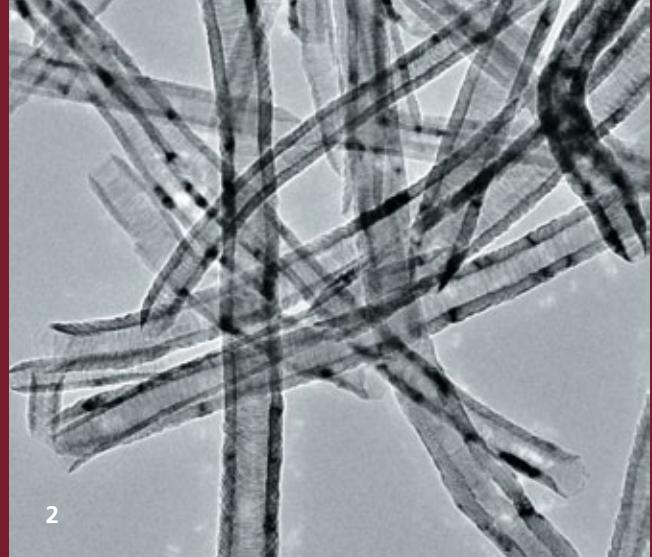
Der zunehmende Einsatz von Nanomaterialien in verschiedensten Produkten erfordert genauere Kenntnisse über die Risiken, die von diesen extrem kleinen Substanzen ausgehen. Unabhängig davon, ob es Nanopartikel, -rörchen, -fasern oder auch -plättchen sind – die Substanzen sind wesentlich reaktiver, haben sie doch ein extrem großes Verhältnis von Oberfläche zu Volumen. Welches Risiko tatsächlich von diesen Substanzen ausgeht, hängt unter anderem von der genauen Struktur und den Eigenschaften ab. Am Fraunhofer ITEM testen die Wissenschaftler vor allem die Toxizität für Lunge und Atemwege.

Kohlenstoff-Nanoröhren

Ihre außergewöhnlichen Eigenschaften – extreme Zugfestigkeit, hohe elektrische Leitfähigkeit und das geringe Gewicht – machen die Kohlenstoff-Nanoröhren (CNT) für verschiedenste Produkte interessant. Einige Untersuchungen weisen jedoch darauf hin, dass bestimmte Nanotubes mit speziellen Eigenschaften beim Einatmen ähnlich krebsauslösend sein könnten wie Asbestfasern. Im Forschungsverbund »CarboTox« soll ein Screening-Verfahren entwickelt werden, mit dem ein mögliches krebsauslösendes Potenzial frühzeitig erkannt werden kann. Am Fraunhofer ITEM werden dafür nur die CNTs verwendet, die in einem simulierten Lungenmilieu, das heißt in künstlichem Lungensurfactant, als Einzelfasern vorliegen und damit asbestähnlich reagieren könnten. Von kürzeren Nanotubes und solchen, die im Knäuel vorliegen, scheinen, so die bisherigen Kenntnisse, keine toxischen Wirkungen auszugehen. Um den Einfluss von Durchmesser, Länge und funktionellen Gruppen



1



2

untersuchen zu können, werden von einem Projektpartner maßgeschneiderte CNTs hergestellt. Die Untersuchungen werden im Tiermodell – *in vivo* – und im Labor in verschiedenen *In-vitro*-Tests an Zellkulturen durchgeführt.

Kohlenstoff-Nanopartikel

Carbon Black ist die englische Bezeichnung für Industrieroß, ein Material, das weltweit in großen Mengen hergestellt wird. Es besteht aus kleinsten Nanopartikeln und wird beispielsweise in der Produktion von Autoreifen und anderen Kunststoffen verwendet. Ein Gesundheitsrisiko dieser Kohlenstoff-Nanopartikel (CBNP) kann bisher nicht ausgeschlossen werden, die Weltgesundheitsorganisation stuft die Partikel als potenziell krebsauslösend ein. Das BMBF fördert den Forschungsverbund »CarbonBlack«, um zu klären, inwieweit das Gefährdungspotenzial von den verschiedenen Eigenschaften der unterschiedlichen Carbon-Black-Sorten abhängt. Am Fraunhofer ITEM in Hannover werden insbesondere die toxikologischen Wirkungen auf menschliche Lungenzelllinien und Lungenschnitte getestet und im Tiermodell überprüft. Im Verbund soll in den kommenden drei Jahren ein mehrstufiges Prüfsystem entwickelt werden, mit dem die toxischen Wirkungen von verschiedenen Carbon-Black-Nanopartikeln auf Lunge und Atemwege des Menschen quantifiziert werden können.



KONTAKT

Dr. Bernd Bellmann
CarboTox
Telefon +49 511 5350-452
bernd.bellmann@item.fraunhofer.de



Dr. Tanja Hansen
CarbonBlack
Telefon +49 511 5350-226
tanja.hansen@item.fraunhofer.de

Projektbericht

ABLEITUNG VON GRENZWERTEN BEI INHALATION

ZUSAMMENFASSUNG

Im Rahmen des EU-Projekts OSIRIS arbeiten Mitarbeiter der Chemikalienbewertung am Fraunhofer ITEM zusammen mit weiteren europäischen Partnern an der Entwicklung einer integrierten Teststrategie (ITS) für den Endpunkt chronische Toxizität von Chemikalien. Ziel ist es, durch die Kombination und Gewichtung aller bereits verfügbaren *In-vitro*- und *In-vivo*-Daten einer Chemikalie zu einer Risikobewertung zu gelangen und dadurch weitere Tierversuche zu vermeiden. Ein Baustein der integrierten Teststrategie ist das TTC-Konzept (Threshold of Toxicological Concern). Bleibt die Exposition des Menschen unterhalb der TTC-Grenzwerte, wird kein Risiko für den Menschen angenommen. Im Rahmen des OSIRIS-Projektes wurden mit Hilfe der FhG-Datenbank RepDose (www.Fraunhofer-RepDose.de) TTC-Grenzwerte für die inhalative Aufnahme nicht gentoxischer Substanzen abgeleitet.

Einleitung

Die TTC-Grenzwerte werden angewendet, wenn keine Tierversuche zu einer Substanz vorliegen oder eine Testung technisch nicht möglich ist. Sie wurden bisher schon erfolgreich zur Regelung von Lebensmittelzusatzstoffen und Zusätzen in Kosmetika eingesetzt. Im TTC-Konzept werden – basierend auf strukturellen Merkmalen – mit Hilfe des sogenannten Cramer-Entscheidungsbaumes drei Substanzklassen und deren Grenzwerte unterschieden. Die Cramer-Klassen 1 und 2 enthalten Substanzen, deren Struktur eine geringe/moderate Toxizität unterstützt, während Cramer-Klasse 3 alle Substanzen mit vorwiegend reaktiven strukturellen Gruppen enthält, von denen eine-toxische Wirkung angenommen wird. Der Cramer-Entscheidungsbaum basiert auf theoretischen Überlegungen und wurde bereits 1978 für systemische Toxizität entwickelt. 1996 nutzte Munro die Cramer-Klassen, um TTC-Grenzwerte für die orale Aufnahme abzuleiten. Hierzu entwickelte er die sogenannte Munro-Datenbank, die NOEL- und LOEL-Werte (No und Lowest Observed Effect Level) von über 600 Substanzen aus überwiegend subchronischen und chronischen Studien in Ratten, Mäusen, Hamstern und Kaninchen enthält. Es wurde ein Grenzwert von 1800 µg/Person/Tag für Cramer-Klasse 1, 540 µg/Person/Tag für Cramer-Klasse 2 und 90 µg/Person/Tag für Cramer-Klasse 1 abgeleitet.

Ziel des Projektes

Für die Exposition am Arbeitsplatz spielt Aufnahme von Substanzen über Inhalation eine wichtige Rolle. Ziel dieses Projek-

tes ist es zu evaluieren, inwieweit sich das TTC-Konzept zur Ableitung von Grenzwerten für inhalativ aufgenommene Substanzen eignet.

Ableitung der Grenzwerte

203 Industriechemikalien mit Inhalationsstudien zur wiederholten Verabreichung konnten innerhalb der RepDose-Datenbank identifiziert werden. Grenzwerte wurden analog zu dem von Munro entwickelten Vorgehen abgeleitet und ergaben Grenzwerte von 4 µg/Person/Tag für Cramer-Klasse 1 und 71 µg/Person/Tag für Cramer-Klasse 3. Da nur wenige Substanzen (4%) in Klasse 2 gruppiert wurden, konnte hier kein Grenzwert abgeleitet werden. Damit liegen die Inhalationsgrenzwerte signifikant tiefer als die TTC-Werte für die orale Exposition. Es konnte gezeigt werden, dass ein Grund für die beobachtete Differenz der inhalativen und oralen Grenzwerte die Sensitivität des respiratorischen Traktes für lokale Effekte in Inhalationsstudien ist. Lokale Effekte im respiratorischen Trakt treten häufig und schon bei geringen Konzentrationen auf und bestimmen dadurch den NOEC (No Observed Effect Concentration).

In einem nächsten Schritt wurden alle Substanzen mit Strukturalerten für Gentoxizität ausgeschlossen, da gentoxische Substanzen über einen spezifischen TTC-Wert von 0,15 µg/Person/Tag reguliert sind. Für nicht gentoxische Substanzen wurden die folgenden TTC-Werte erhalten: 180 µg/Person/Tag für Cramer-Klasse 1 und 4 µg/Person/Tag für Cramer-Klasse 3. Eine Übersicht der in diesem Projekt abgeleiteten Grenzwerte ist in Tabelle 1 dargestellt.

Ausblick

Die europäische Direktive REACH verlangt die Risikobewertung tausender Chemikalien innerhalb der nächsten Jahre. Die in diesem Projekt abgeleiteten inhalativen Grenzwerte stellen zusammen mit den schon in der Literatur beschriebenen oralen TTC-Werten eine nützliche und transparente Methode dar, weitere Tierversuche zu vermeiden, wenn die Exposition unterhalb des substanzspezifischen Grenzwertes liegt. Durch Einbeziehen routenspezifischer Unterschiede kann das TTC-Konzept und damit die abgeleiteten Grenzwerte weiter verbessert werden.

Literatur

Escher, S. E.; Tluczkiewicz, I.; Batke, M.; Bitsch, A.; Melber, C.; Kroese, E. D.; Buist, H. E.; Mangelsdorf, I. (2010)
Evaluation of inhalation TTC values with the database RepDose.
In: Regulatory Toxicology and Pharmacology 58: 259-274

Tabelle 1: Abgeleitete TTCs für inhalative Aufnahme, basierend auf den Daten in der Datenbank RepDose

Datenquelle	Route	Anzahl Substanzen	TTC für	
			Cramer-Klasse 1	Cramer-Klasse 3
RepDose	Inhalation	Alle Substanzen	71	4
RepDose	Inhalation	Nicht gentoxische	180	4

* Exposition: 24 Stunden/Tag an 7 Tagen/Woche



KONTAKT

Dr. Sylvia Escher
Telefon +49 511 5350-330
sylvia.escher@item.fraunhofer.de

Projektbericht

LOKALE GENTOXIZITÄT IN DER LUNGE

ZUSAMMENFASSUNG

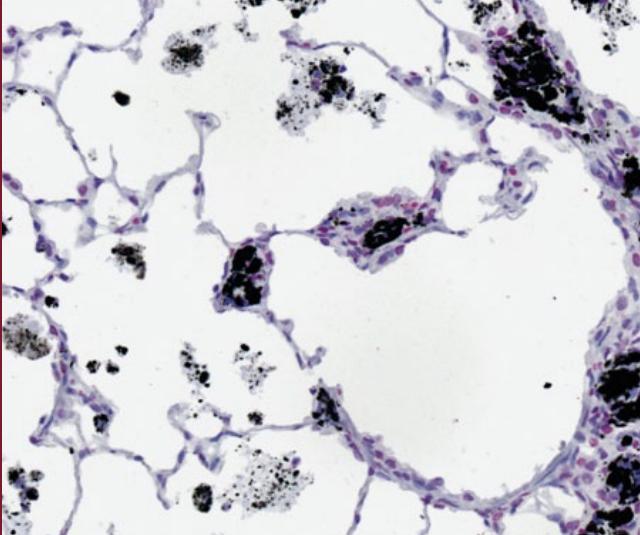
Wie wirken Fein- und Ultrafeinstäube auf das Erbgut von Lungenepithelzellen ein, wenn sie eingeatmet werden? Dieser mechanistischen Frage nach der lokalen Gentoxizität von Partikeln gingen Wissenschaftler am Fraunhofer ITEM nach, indem sie aus einer bereits abgeschlossenen Tierstudie vorhandene Lungengewebsproben immunhistochemisch auf die Expression von Gentoxizitätsmarkern untersuchten und diese Ergebnisse mit Daten zu anderen Endpunkten aus der Originalstudie sowie mit Literaturdaten verglichen.

Einleitung

Um die lokale Gentoxizität von Fein- und Ultrafeinstäuben in Lungenepithelzellen zu untersuchen, wurde zum einen die aktuelle Literatur ausgewertet, zum anderen wurde experimentell ein immunhistochemischer Ansatz gewählt. Dieser ermöglichte es, vorhandene Lungengewebsproben von (Nano)partikel-exponierten Tieren aus einer abgeschlossenen Fraunhofer-ITEM-Studie retrospektiv auf lokale Gentoxizität zu untersuchen. Zum Nachweis wurden dabei verschiedene Marker für Gentoxizität ausgewählt. Entsprechende, kommerziell verfügbare Primärantikörper für formalinfixiertes, in Paraffin eingebettetes Gewebe wurden zunächst validiert und die immunhistochemischen Nachweisreaktionen an die Anforderungen des vorhandenen Untersuchungsmaterials angepasst.

Lungengewebsproben

Die in Paraffin eingebetteten Lungengewebsproben stammten aus Ratten, die durch mehrmalige intratracheale Instillation für 3 Monate, also subchronisch, gegenüber Quarz, amorphem Siliziumdioxid oder Ruß exponiert worden waren. Zusätzlich standen Ergebnisse einer Kanzerogenitätsstudie mit intratrachealer Instillation der gleichen Partikel sowie 3-Monatsdaten zur Entzündungssituation (bronchoalveolare Lavage und Histologie) zur Verfügung, die eine vergleichende Validierung der Gentoxizitätsmarker und Bewertung ihrer Expression ermöglichten.



Immunhistochemischer Nachweis von 8-Hydroxy-2'-desoxyguanosin (8-OH-dG) als prämutagene DNA-Basenmodifikation und Marker für oxidative DNA-Schäden in Lungengewebe einer Ratte nach Behandlung mit Testruß (Printex® 90). Epitheliale Zellen mit positivem, rot markiertem Kern wurden quantifiziert.

Marker für Gentoxizität

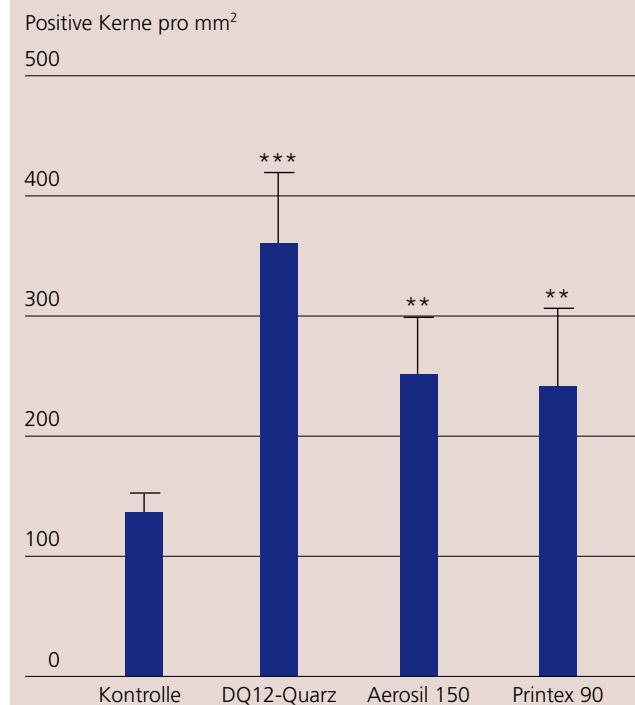
Die lokale Gentoxizität wurde durch immunohistochimische Detektion und nachfolgende bildanalytische Quantifizierung von vier verschiedenen DNA-Schädigungsmarkern untersucht. Die folgenden Gentoxizitätsmarker wurden ausgewählt: Poly(ADP-Ribose) (PAR), phosphoryliertes H2AX (γ -H2AX), 8-Hydroxy-2'-desoxyguanosin (8-OH-dG) und 8-Oxoguanin-DNA-Glycosylase (OGG1). PAR zeigt frühe Zellreaktionen bei DNA-Schäden an, γ -H2AX weist vor allem auf DNA-Doppelstrangbrüche (DSB) hin, 8-OH-dG stellt eine häufige, prämutagene oxidative DNA-Basenmodifikation dar und OGG1 spiegelt die Reparaturkapazität bezüglich oxidativer DNA-Schäden wider.

Ergebnisse

Die Studie zeigte, dass eine quantitative, bildanalytische Bestimmung von Gentoxizitätsmarkern in epithelialen Zellen der Lunge nach immunhistochimischer Markierung mittels spezifischer Antikörper in Paraffinschnitten möglich ist. In der untersuchten Überladungssituation zeigte sich in den 3-Monatsproben eine unterschiedlich ausgeprägte lokale Gentoxizität, die gewisse Rückschlüsse auf mögliche gentoxische Wirkmechanismen von Partikeln zuließ. Als am empfindlichsten erwies sich dabei der DNA-Doppelstrangbruchmarker γ -H2AX. Die γ -H2AX-Expression korrelierte am besten mit den in der Originalstudie erhobenen Daten zum Entzündungsgeschehen und mit den Daten der Kanzerogenitätsstudie und zeigte Unterschiede zwischen den drei Partikeltypen auf. Die Ergebnisse standen dabei insgesamt in Einklang mit Literaturdaten zur Gentoxizität dieser Partikel.

Abb. 1: Quantitative Auswertung von 8-OH-dG-positiven Zellkernen in Lungenschnitten partikelbeladener Ratten

Der Marker 8-OH-dG stellt eine prämutagene, oxidative Basenmodifikation dar und wurde mittels Immunhistochemie in Lungenepithelzellen nachgewiesen. Zur Quantifizierung wurde ein automatisiertes Durchlichtmikroskop mit digitaler SIS-Kamera und das Bildanalysesystem »SIS Analysis Five« eingesetzt. Es erfolgte eine Auswertung von 20 peribronchiolären Feldern pro Lungenschnitt. Die Tiere waren für 3 Monate mit einem Testruß (Printex® 90), kristallinem (DQ12) oder amorphem SiO₂ (Aerosil® 150) behandelt worden. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm Standardabweichung von 6 Tieren pro Behandlungsgruppe. Die Zahl der positiven Zellkerne wurde dabei auf mm² Gewebefläche bezogen. Statistisch signifikant von der Kontrolle: ** p ≤ 0,01, *** p ≤ 0,001, Student's t-Test für ungepaarte Werte.



GEWERBE-, UMWELTTOXIKOLOGIE UND VERBRAUCHERSCHUTZ

Bei Quarz DQ12 ergaben alle verwendeten Marker statistisch signifikante positive Ergebnisse, was für prägnanten gentoxischen Stress, das Entstehen von DSB sowie von oxidativen DNA-Schäden mit korrespondierender Reparaturaktivität sprach. Die gentoxische Antwort auf die Exposition gegenüber Printex® 90 (Testruß) war trotz höherer Dosierung weniger deutlich ausgeprägt, aber es wurde dennoch eine signifikante Erhöhung an DSB- und 8-OH-dG-positiven Kernen und OGG1-positivem Zytoplasma detektiert. Bei Aerosil® 150 (amorphes Siliziumdioxid) waren nur die 8-OH-dG-Werte und die OGG1-abhängige Reparaturaktivität (OGG1-Expression im Zytoplasma) statistisch signifikant erhöht.

Mit dieser Studie konnten die Wissenschaftler am Fraunhofer ITEM eine Methode etablieren, um an Paraffingewebeschnitten auch retrospektiv die lokale Gentoxizität von Partikeln in der Lunge mit Hilfe verschiedener Gentoxizitätsmarker quantitativ zu erfassen, also einen Ansatz, der auch für die Prognose von partikelbedingten Tumorerkrankungen von Bedeutung sein dürfte. Bei entsprechender Anpassung erlaubt diese Methode theoretisch die Erfassung lokaler Gentoxizität *in vivo* in verschiedenen Zielorganen und bietet somit weitreichende Möglichkeiten für eine Integration von Gentoxizitätsendpunkten in subchronische Toxizitätsstudien sowie für mechanistische Untersuchungen, wie z. B. die Unterscheidung von gentoxischen und nicht gentoxischen Kanzerogenen. Das vorliegende Forschungsprojekt wurde von der Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin gefördert.



KONTAKT

Priv.-Doz. Dr. Susanne Rittinghausen
Telefon +49 511 5350-310
susanne.rittinghausen@item.fraunhofer.de



Dr. Christina Ziemann
Telefon +49 511 5350-203
christina.ziemann@item.fraunhofer.de

Geschäftsfeld 3

PROJEKTÜBERSICHT

Aerosoltechnik	Bio- und Umweltanalytik	
Validierung eines DV-gestützten Modells zur Abschätzung der inhalativen und dermalen Exposition bei Sprayprozessen	Experimentelle Untersuchungen zur Sicherheit bei Transport und Lagerung radioaktiver Stoffe	Bestimmung von Hämoglobin-Addukten
Entwicklung eines kontinuierlichen Verfahrens zur Herstellung von Kalibreraerosolen im ultrafeinen Partikelgrößenbereich	Untersuchungen zu Schutzmaßnahmen von Einsatzpersonal in radiologischen Notfällen	Konzentrationsbestimmung von Pharmaka in Expositionsatmosphären und Formulierungen
Reduktion der Gefahren durch luftgetragene Mikroorganismen: schnelle, automatisierte und spezifische Detektion von Keimen und Viren mittels immunbiologischer Verfahren	Bereitstellung aerosoltechnischer Expertise und Anlagen für Bau und Betrieb einer Aerosolkammer für Mikroorganismen	Entwicklung von Methoden zur Non-Target-Analytik komplexer Gemische
Allgemeine und Reproduktionstoxikologie		Entwicklung von NMR/MS-Datenmodellierung zur Charakterisierung zustandsabhängiger Metabolitenmuster
Charakterisierung der Exposition bei Verwendung unterschiedlicher Sprayprodukte im Haushalt	Einfluss niederfrequenter elektromagnetischer Felder auf das sich entwickelnde blutbildende System, das Immunsystem und das ZNS <i>in vivo</i>	Strukturaufklärung von Verunreinigungen und Abbauprodukten in Pharmaka mittels LC-NMR- und LC-MS-Untersuchungen
Untersuchung zur Partikeldeposition im Respirationstrakt des Minischweins	Entwicklung von validierten Methoden zum Biomonitoring ausgewählter Metaboliten	Begleitende analytische Untersuchungen zu <i>In-vitro</i> -Expositionstudien mit Gasen
	Bestimmung von 3-MCPD in Körperflüssigkeiten und Organen	

**GEWERBE-, UMWELTTOXIKOLOGIE
UND VERBRAUCHERSCHUTZ**

Bestimmung spezifischer anorganischer Tracer für die Erstellung von Ausbreitungs- und Verteilungsmodellen	Genetische Toxikologie Comet-Assay-basierte Beurteilung der Gentoxizität von quarzhaltigen Keramikfasern	Inhalationstoxikologie Sichtung von Fasermaterialien zur Auftrennung in verschiedene atembare Fraktionen	Entwicklung von Screening-Verfahren zur Untersuchung eines möglichen kanzerogenen Potenzials von Carbon Nanotubes
Gehaltsbestimmung toxischer Elemente in Verbraucherprodukten	Mechanistische Untersuchungen zur Gentoxizität von Nitrostyrolderivaten unter besonderer Berücksichtigung der Topoisomerase II-Aktivität	Untersuchung der <i>In-vivo</i> -Löslichkeit von glasartigen Faserstäuben	Studie an Ratten zur Toxikokinetik nach Inhalation von Carbon Nanotubes
Zytostatika-Monitoring: Arbeitsplatzüberwachung bei der zentralen Zubereitung von Zytostatika in Kliniken und Apotheken	Untersuchungen zum gentoxischen Potenzial von Bisphenol A als möglichem Freisetzungspunkt aus Zahnfüllmaterialien an primären Gingivafibroblasten	Studien zur Bewertung der Lungentoxizität von Tonerpulvern und Tonerhilfsstoffen	<i>In-vitro</i>-Toxikologie
Datenbanken und Informationssysteme	RITA – Registry of Industrial Toxicology Animal-data	Studie an Ratten zur Toxikokinetik nach Inhalation von nanoskaligen schwerlöslichen Partikeln	Entwicklung eines biologischen Detektors für inhalative Prüfgegenstände
CEPA – Cell Proliferation and Apoptosis goRENI INHAND – International Harmonization of Nomenclature and Diagnostic criteria	Untersuchungen zur <i>In-vitro</i> - und <i>In-vivo</i> -Gentoxizität von innovativen Arzneimitteln Teilnahme an einer internationalen Ringstudie zum Ames-Fluktuationstest	Dispersion und Retention von Stäuben mit ultrafeinen Primärpartikeln in der Lunge Vergleich dreier Nano-Titan-dioxide mit verschiedener Oberflächencharakteristik im 28-Tage-Inhalationstest	<i>In-situ</i> -Analyse zellulärer Wirkungen von luftgetragenen Substanzen und Wirkstoffen <i>in vitro</i> Erweiterte Prävalidierung der Air/Liquid-Interface-Technologie als Prüfmethode für inhalative Substanzen (Gase) im Rahmen einer Ringstudie

<i>In-vitro</i> -Expositionen von Nanopulvern gegen Zelllinien aus verschiedenen Lokalisationen des Respirationstraktes zur Charakterisierung der partikulären Aufnahme und Verteilung	Untersuchung von Entzündungsparametern und oxidativem Stress in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit der Ratte	Elektronenmikroskopische Untersuchung zum Nachweis von inhalierten bzw. instillierten Nanopartikeln im Respirationstrakt	Pathogenetische und immunbiologische Untersuchungen zur Staubkanzerogenität
Herstellung komplexer Zellkulturmodelle für den Einsatz in Screeningverfahren zu Wirkuntersuchungen von Substanzen	Messung von Vitalitätsparametern (LDH, Harnstoff) in Zellkulturüberständen	Elektronenmikroskopische Untersuchung zur Translokation von feinen und nanoskaligen Titandioxid-Partikeln von der Nase zum Gehirn	Pathologie-Datenbank RITA (Registry of Industrial Toxicology Animal-data) in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe Datenbanken und Informationssysteme
Klinische Chemie und Toxikokinetik	Screening-Untersuchungen an humanen Zelllinien aus unterschiedlichen Lokalisationen des Respirationstraktes zur Toxizität von Carbon-Black-Nanopartikeln	Gentoxische Wirkmechanismen von feinen und ultrafeinen Stäuben in der Lunge	Zellproliferationsuntersuchungen im Respirationstrakt nach Inhalation von verschiedenen Fasertypen
Hämatologische und klinisch-chemische Untersuchungen im Rahmen von toxikologischen Prüfungen	Pathologie	Histologische Untersuchungen des Respirationstrakts nach Inhalation beziehungsweise intratrachealer Instillation unterschiedlicher Faser- und Partikeltypen	Zelluläre und subzelluläre Effekte an Epithelzellen der Lunge der Ratte nach Inhalation von feinen und nanoskaligen Titandioxid-Partikeln
Untersuchung der dermalen Aufnahme von Zinkoxid-Nanopartikeln	Elektronenmikroskopische Untersuchung des Verhaltens von Nanopartikeln nach zellulärer Aufnahme in verschiedenen Zellkultursystemen	Histologische, immunhistochemische und morphometrische Untersuchungen zur Wirkung von verschiedenen Fasertypen auf Peritonealzellen	

GESCHÄFTSFELD 4

**PRÜFUNG UND REGISTRIERUNG
VON CHEMIKALIEN, BIOZIDEN UND
PFLANZENSCHUTZMITTELN**



PRÜFUNG UND REGISTRIERUNG VON CHEMIKALIEN, BIOZIDEN UND PFLANZENSCHUTZMITTELN

Projektberichte

**REACH: Registrierungen in
der Praxis**

**Zulassung von Biozidpro-
dukten: neue Herausforde-
rungen für die Antragsteller**

In dem Geschäftsfeld Prüfung und Registrierung von Chemikalien, Bioziden und Pflanzenschutzmitteln konzentriert sich die langjährige Erfahrung und die umfassende Expertise in der Risikobewertung. Diese umfasst die Expositionsschätzung, Umweltverhalten, Toxikologie und Ökotoxikologie.

Für zahlreiche Stoffe sind neben den bereits vorliegenden Daten weitere Prüfungen erforderlich, um eine Risikobewertung zu ermöglichen. Auch durch die seit 2007 bestehende EU-Verordnung REACH werden zahlreiche Nachuntersuchungen von Altstoffen notwendig. Die Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter dieses Geschäftsfeldes sichten und bewerten die vorliegenden Daten und empfehlen gegebenenfalls zusätzliche Untersuchungen zu dem betreffenden Stoff. Um Datenlücken zu schließen, werden am Fraunhofer ITEM Prüfungen zu den folgenden Endpunkten durchgeführt: Toxikokinetik, Sensibilisierung, Immuntoxizität, subchronische und chronische Toxizität, Reproduktionstoxizität, Teratogenität, Kanzerogenität und Mutagenität. Außerdem können Fragen zum Wirkmechanismus von Chemikalien geklärt werden.

Das Fraunhofer ITEM arbeitet je nach Bedarf eng mit verschiedenen Fraunhofer-Instituten und anderen Auftragsforschungsinstituten zusammen. Somit können alle für die gesetzlich vorgeschriebene Risikobewertung geforderten Daten, physiko-chemische Eigenschaften und Ökotoxizität eingeschlossen, aus einer Hand geliefert und die Gesamtbewertung sowie Registrierungsdossiers erstellt werden. Alle Gutachten werden unter der Einhaltung hoher Standards angefertigt.

Die gesetzlichen Bestimmungen, insbesondere die Kriterien für die Risikobewertung, sind einem ständigen Wandel unterworfen. Durch die Zusammenarbeit mit nationalen und internationalen Gremien und Behörden sowie die Teilnahme an Ringversuchen ist das Fraunhofer ITEM an der Entwicklung von Richtlinien beteiligt und kann unmittelbar auf veränderte Randbedingungen reagieren; davon profitieren in besonderem Maße auch unsere Kunden. Es ist absehbar, dass der Bedarf an Risikobewertungen und ergänzenden toxikologischen Untersuchungen für Chemikalien weiter steigen wird. Die Stoffbewertung im Rahmen der REACH-Verordnung ist eine der Herausforderungen der kommenden Jahre. Daher werden die Kompetenzen in diesem Geschäftsfeld stetig weiter ausgebaut.

KONTAKT



Dr. Inge Mangelsdorf
Telefon +49 511 5350-303
inge.mangelsdorf@item.fraunhofer.de



Dr. Jochen Buschmann
Telefon +49 511 5350-462
jochen.buschmann@item.fraunhofer.de

Projektbericht

REACH: REGISTRIERUNGEN IN DER PRAXIS

ZUSAMMENFASSUNG

Im Rahmen der Registrierung von Industriechemikalien nach der neuen europäischen Chemikalienverordnung REACH (**R**egistration, **E**valuation, and **A**uthorisation of **C**hemicals) waren für Stoffe mit einem Produktions- bzw. Importvolumen von mehr als 1000 t/a die ersten Registrierungsdossiers zum 30. November 2010 bei der European Chemicals Agency (ECHA) einzureichen. Das Team der Chemikalienbewertung am Fraunhofer ITEM erstellte für eine Reihe von Stoffen mit den höchsten Produktions- bzw. Importvolumina die Registrierungsdossiers.

Kernpunkt der Registrierungsdossiers für Industriechemikalien ist – neben umfangreichen Daten zur Wirkung auf Mensch und Umwelt – die Ableitung der Rahmenbedingungen für einen sicheren Umgang mit den jeweiligen Stoffen innerhalb der identifizierten Verwendungen. Hierzu waren Wirksschwellen zu definieren, unterhalb derer mit keinen negativen Auswirkungen auf Mensch und Umwelt zu rechnen ist: sogenannte »**D**erived **N**o **E**ffect **L**evels« (DNEL) für die Toxikologie und »**P**redicted **N**o **E**ffect **C**oncentrations« (PNEC) für die Ökotoxikologie. Aus dem Vergleich dieser Werte mit den abgeschätzten Expositionen für die jeweilige Verwendung erfolgt die Bewertung, ob der Stoff sicher verwendet werden kann.

Schwierigkeiten

Die Abstimmung der Verwendungen zwischen Herstellern, Weiterverarbeitern und Anwendern stellte sich aufgrund unterschiedlicher Verwendung und Bedeutung von Begriffen in den verschiedenen Sektoren als schwierige Aufgabe dar. Die andauernden Aktualisierungen der technischen Leitfäden trugen dabei nicht zur Verbesserung der Situation bei, sondern sorgten zusätzlich für Verwirrung. Ebenso wurden einige für die Registrierung wichtige Software-Tools erst später als angekündigt geliefert bzw. befinden sich noch immer in der Entwicklung. Andere Tools stellten sich als fehlerhaft heraus.

Lösungen

Trotz der genannten Schwierigkeiten konnten alle durch das Fraunhofer ITEM betreuten Stoffe mit den höchsten Produktions- bzw. Importvolumina fristgerecht und entsprechend den gesetzlichen Bestimmungen registriert werden. Die dabei gewonnenen Erfahrungen (im Bereich Expositionabschätzung und Grenzwertableitung wie auch aus den Diskussionen innerhalb der Konsortien und zwischen den Akteuren der Lieferkette) können nun für die nächsten Registrierungsphasen von Stoffen kleinerer Produktionsvolumina sowie eine möglicherweise erforderliche Überarbeitung eingereichter Dossiers genutzt werden.

Darüber hinaus arbeiten die Mitarbeiter der Abteilung aktuell für das Umweltbundesamt an einem Projekt zum Vergleich der nationalen Methoden zur Stoffbewertung, in dem die Verfahren zur Ableitung von Wirksschwellen und Grenzwerten vergleichend untersucht werden.

Ausblick

Das interdisziplinäre Team der Abteilung wird die Entwicklung von REACH durch die Mitarbeit in verschiedenen Arbeitskreisen (z. B. niedersächsischer Arbeitskreis »Europäische Chemikalienpolitik«) weiter begleiten. Die bisher gemachten Erfahrungen werden im Rahmen des Arbeitskreises vorgestellt und in die Diskussion eingebracht. Dadurch und durch die langjährigen Erfahrungen in den verschiedenen Bereichen der Chemikalienbewertung sind die Mitarbeiter in der Lage, die betroffenen Unternehmen bei der Umsetzung von REACH kompetent zu unterstützen.

KONTAKT



Dr. Gustav Köinnecker
Telefon +49 511 5350-328
gustav.koennecker@item.fraunhofer.de

Projektbericht

ZULASSUNG VON BIOZIDPRODUKTEN: NEUE HERAUSFORDERUNGEN FÜR DIE ANTRAGSTELLER

ZUSAMMENFASSUNG

Biozidprodukte unterliegen einem komplexen Zulassungsverfahren, das für Firmen mit einer Reihe von Hürden verbunden ist. Ein interdisziplinäres Team aus dem Bereich der Chemikalienbewertung entwickelt am Fraunhofer ITEM Konzepte und Systeme, die die Erstellung von Dossiers für die Produktzulassung vereinfachen können und zum Einsparen von Studien beitragen.

Der Einsatz von Biozidprodukten ist fest in unserem täglichen Leben verankert. Dabei gelten als Biozidprodukte nicht nur Desinfektionsmittel und Insektizide, sondern ebenso Produkte, die die Haltbarkeit von Materialien wie beispielsweise Papier oder Holz verlängern oder den reibungslosen Ablauf von Arbeits- und Werkprozessen aufrechterhalten. Aufgrund ihrer Wirkung gegen Schädlinge bieten sie einerseits einen hohen Schutz, stellen andererseits aber auch eine potenzielle Gefahr für Mensch und Umwelt dar. Daher unterliegen Wirkstoffe und Produkte einem komplexen Zulassungsverfahren nach der Biozidprodukt-Richtlinie (BPD 98/8/EG).

Neue Konzepte für die Produktzulassung

Die Bewertung vieler Wirkstoffe ist zurzeit in der Endphase, und über die Aufnahme der bioziden Wirkstoffe in Annex I/IA wird diskutiert. Nun stellt sich die Herausforderung, Konzepte zu entwickeln, die die Erstellung von Dossiers für die Produktzulassung erleichtern. Speziell für die Beratung von Firmen, die eine Vielzahl von Produkten auf den Markt bringen, ist im Fraunhofer ITEM ein Datenmanagement-System entwickelt worden. Datenlücken werden schnell analysiert und vorhandene Informationen anderer Produkte auf Übertragbarkeit geprüft; Ziel ist es unter anderem, (Tier-)Versuche einzusparen.

Eine weitere Vereinfachung ermöglicht das Konzept der »Rahmenformulierungen«. Es ist anwendbar bei Zulassungen von mehreren Produkten, wenn diese dieselben aktiven Wirkstoffe



und Hauptbestandteile enthalten und sich nur in Duft und Farbe unterscheiden. Zudem müssen auch dieselbe Applikationsart und derselbe Verwendungszweck zugrunde liegen. Eine Änderung in der Zusammensetzung darf weder das Risiko für Mensch und Umwelt erhöhen, noch die Wirksamkeit beeinträchtigen. Hierbei ist zu beachten, dass schon die Zugabe eines einzigen weiteren Inhaltsstoffes die Risikobewertung und auch die Klassifizierung des Produktes beeinträchtigen kann. Bevor eine Zulassung mittels Rahmenformulierung geplant werden kann, ist eine detaillierte Analyse der Produktzusammensetzungen unter Einbeziehung aller Inhaltsstoffe und die Beachtung möglicher kumulativer Toxizitäten notwendig.

Mikrobielle Wirksamkeit im Test

Ein weiterer Eckpunkt innerhalb der Biozidprodukt-Richtlinie ist die Testung der Produkte auf ihre mikrobielle Wirksamkeit. Hierbei muss gezeigt werden, dass bei der empfohlenen Anwendungskonzentration eine ausreichende Wirksamkeit gegeben ist, ohne dass schädliche Effekte auf Mensch, Tier und Umwelt auftreten. Besondere Beachtung verdient die Tatsache, dass alle spezifischen Auslobungen, also Etikettierungen wie »bakterizide«, »tuberkulozide« oder »viruzide« Wirkung mit entsprechenden Tests untermauert werden müssen.

Entgegen der minimalen Wirksamkeitsanforderungen für den Annex-I-Eintrag der aktiven Substanzen wird also für die Biozidprodukte ein umfangreiches und vollständiges Wirksamkeitsprofil gefordert. Dieses Profil kann je nach Produkt individuell unterschiedlich sein und ist abhängig von der Auslobung des Produktes und dem Produkt-Typ, in dem das Produkt zugelassen werden soll. Ist z. B. die Zulassung eines Produktes sowohl für die Desinfektion im Lebensmittelbereich als auch für die Oberflächendesinfektion im Krankenhaus geplant, sind unterschiedliche Tests durchzuführen, obwohl die Wirksamkeit für denselben Zielorganismus beworben wird.

Daraus ergibt sich, dass keine allgemeingültigen Vorgaben für die Biozidprodukte existieren, sondern die erforderlichen Richtlinien und Tests pro Produkt oder Produktgruppe erst in Abhängigkeit von der Auslobung ermittelt werden müssen. Für die Bewertung der Wirksamkeit sind zudem bestimmte Endpunkte entscheidend: Ein Test gilt dann als bestanden, wenn das Produkt in einer vorgegebenen Zeiteinheit eine bestimmte Anzahl an Testorganismen inhibiert bzw. abtötet. Speziell für Biozidprodukte in Produktarten 6 bis 22 ist es schwieriger, die passende Richtlinie zu identifizieren und Testlabors zu finden.

Unklare Abgrenzung zu anderen Regularien

Weitere Schwierigkeiten im Zulassungsverfahren für Biozidprodukte sind z. B. die Beurteilung von Mischungstoxizitäten oder der kumulativen Toxizität und auch die unklare Abgrenzung zu anderen Regularien (Pflanzenschutzmittel, Arzneimittel oder Kosmetik-Inhaltsstoffe). So ist z. B. innerhalb der EU unterschiedlich geregelt, ob Sonnenschutzmittel mit Repellentien (Mückenschutz) Biozidprodukte sind oder aber als kosmetische Produkte gelten.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Herausforderung in den unterschiedlichen Datenanforderungen liegt, die sich aus Produktart, -auslobung und -zusammensetzung ergibt. Das interdisziplinäre Team der Chemikalienbewertung entwickelt kontinuierlich Strategien, um vorhandene Daten effektiv zu nutzen. Aufgrund der langjährigen Erfahrung mit der Erstellung von Wirkstoffdossiers unterstützen die Mitarbeiter des Fraunhofer ITEM ihre Kunden zielgerichtet bei der Zulassung von Biozidprodukten.



KONTAKT

Dr. Annette Bitsch
Telefon +49 511 5350-302
annette.bitsch@item.fraunhofer.de

Geschäftsfeld 4

PROJEKTÜBERSICHT

Stoffbewertungen, Chemikalien	Bearbeitung und Aktualisierung von IUCLID-Stoffdatensätzen, »SIDS Initial Assessment Profiles« und »SIAR Hazard Assessments« für Industriechemikalien im Rahmen der HPV-Initiative des Weltchemieverbandes (ICCA); besondere Erfahrungen bestehen in der Bearbeitung sogenannter Stoffgruppenbetrachtungen (»category approaches«)	Erstellung von Risikobewertungen bzgl. »Human Health« und »Environment« im Rahmen von HERA (Human and Environmental Risk assessment on Ingredients of Household Cleaning Products)	Erstellung von Gutachten zur Toxikologie verschiedener Chemikalien
Arbeiten im Zusammenhang mit der Europäischen Chemikalienverordnung (REACH): Beratung von betroffenen Firmen, Hilfestellung bei der Vorbereitung auf die Registrierung, Evaluierung notwendiger Daten, Erstellung von IUCLID-Stoffdatensätzen und Stoffsicherheitsberichten, Entwicklung von Teststrategien, Waiving-Begründungen und Expositionsszenarien	Erstellung von »International Chemical Safety Cards« (ICSC) im Rahmen des »International Programme on Chemical Safety« (IPCS) für die Weltgesundheitsorganisation (WHO)	Erstellung von Stoffberichten für das Noxen-Informationsystem NIS im Auftrag von verschiedenen Landesministrien	Toxikologische Gutachten und Risikobewertung für Verunreinigungen oder Rückstände in Medizinprodukten

Biozide	QSAR, Datenbanken	Bewertung Human- und Tierarzneimittel	Expositionsabschätzungen
Erstellung von Dossiers für die Bewertung von »alten« bioziden Wirkstoffen im Rahmen der 4. Prioritätenliste der EU-Altbiozid-Review-Regulation, inkl. Erarbeitung von Expositionsszenarien und Prüfstrategien	Analyse von Extrapolationsfaktoren für Zeit, Interspezies und Routen und Kombination der Verteilungen im Auftrag von ERASM Bericht zu Strukturwirkungsbeziehungen von Glykolether im Auftrag des Bayerischen Landesamts für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit	Bewertung der Auswirkungen von Arzneimitteln auf die Umwelt Erstellung von Gutachten für die Zulassung von Tierarzneimitteln	Erstellung von »Environmental Health Criteria Documents« (EHC) zu »Dermal exposure« im Rahmen des »International Programme on Chemical Safety« (IPCS) für die World Health Organization (WHO)
Vorbereitende Konzeptentwicklung zur Erstellung von Dossiers für die Produktzulassungen; inkl. Studienmonitoring, Risikobewertungen, Erarbeitung von Expositionsszenarien und Prüfstrategien			

FRAUNHOFER-GESELLSCHAFT

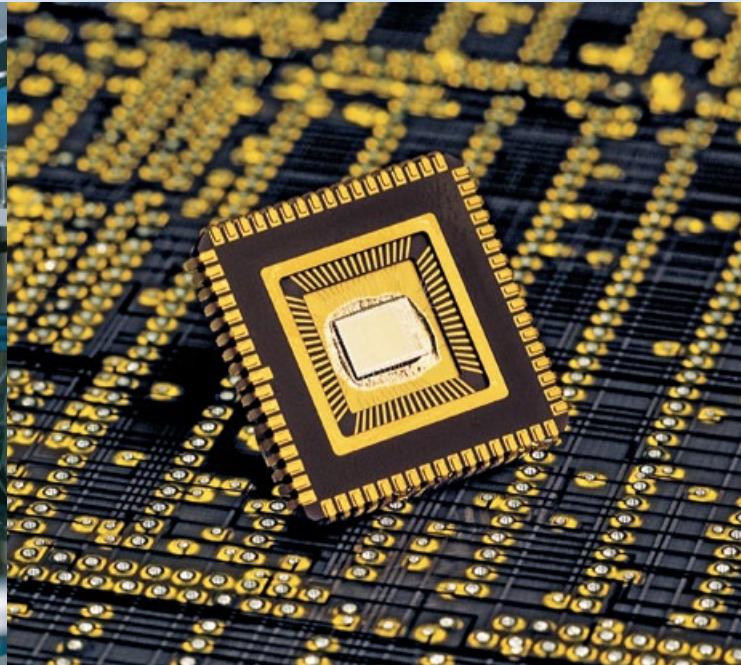
Forschen für die Praxis ist die zentrale Aufgabe der Fraunhofer-Gesellschaft. Die 1949 gegründete Forschungsorganisation betreibt anwendungsorientierte Forschung zum Nutzen der Wirtschaft und zum Vorteil der Gesellschaft. Vertragspartner und Auftraggeber sind Industrie- und Dienstleistungsunternehmen sowie die öffentliche Hand.

Die Fraunhofer-Gesellschaft betreibt in Deutschland derzeit mehr als 80 Forschungseinrichtungen, davon 60 Institute. Mehr als 18 000 Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter, überwiegend mit natur- oder ingenieurwissenschaftlicher Ausbildung, bearbeiten das jährliche Forschungsvolumen von 1,65 Milliarden Euro. Davon fallen 1,40 Milliarden Euro auf den Leistungsbereich Vertragsforschung. Über 70 Prozent dieses Leistungsbereichs erwirtschaftet die Fraunhofer-Gesellschaft mit Aufträgen aus der Industrie und mit öffentlich finanzierten Forschungsprojekten. Knapp 30 Prozent werden von Bund und Ländern als

Grundfinanzierung beigesteuert, damit die Institute Problemlösungen erarbeiten können, die erst in fünf oder zehn Jahren für Wirtschaft und Gesellschaft aktuell werden.

Internationale Niederlassungen sorgen für Kontakt zu den wichtigsten gegenwärtigen und zukünftigen Wissenschafts- und Wirtschaftsräumen.

Mit ihrer klaren Ausrichtung auf die angewandte Forschung und ihrer Fokussierung auf zukunftsrelevante Schlüsseltechnologien spielt die Fraunhofer-Gesellschaft eine zentrale Rolle im Innovationsprozess Deutschlands und Europas. Die Wirkung der angewandten Forschung geht über den direkten Nutzen für die Kunden hinaus: Mit ihrer Forschungs- und Entwicklungsarbeit tragen die Fraunhofer-Institute zur Wettbewerbsfähigkeit der Region, Deutschlands und Europas bei. Sie fördern Innovationen, stärken die technologische Leistungsfähigkeit,



verbessern die Akzeptanz moderner Technik und sorgen für Aus- und Weiterbildung des dringend benötigten wissenschaftlich-technischen Nachwuchses.

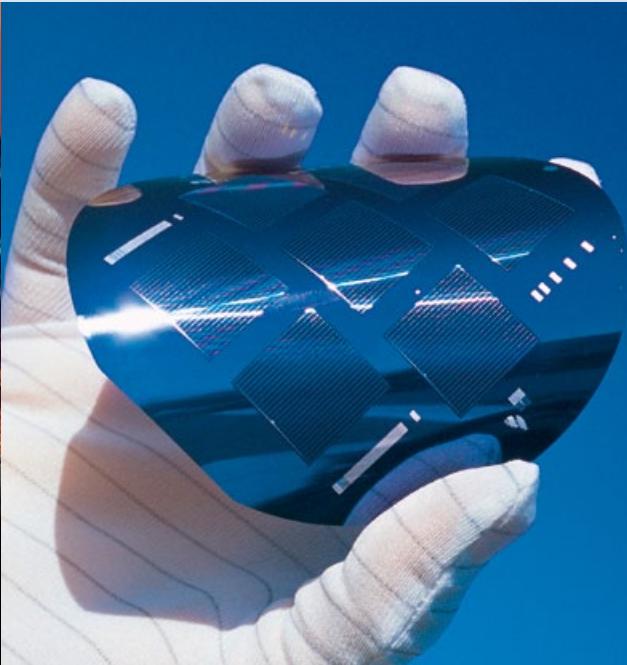
Ihren Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern bietet die Fraunhofer-Gesellschaft die Möglichkeit zur fachlichen und persönlichen Entwicklung für anspruchsvolle Positionen in ihren Instituten, an Hochschulen, in Wirtschaft und Gesellschaft. Studierenden eröffnen sich an Fraunhofer-Instituten wegen der praxisnahen Ausbildung und Erfahrung hervorragende Einstiegs- und Entwicklungschancen in Unternehmen.

Namensgeber der als gemeinnützig anerkannten Fraunhofer-Gesellschaft ist der Münchener Gelehrte Joseph von Fraunhofer (1787–1826). Er war als Forscher, Erfinder und Unternehmer gleichermaßen erfolgreich.

KONTAKT

Fraunhofer-Gesellschaft
Presse- und Öffentlichkeitsarbeit
Franz Miller
Telefon +49 89 1205-1333
Fax +49 89 1205-7515

Hansastraße 27c
80686 München

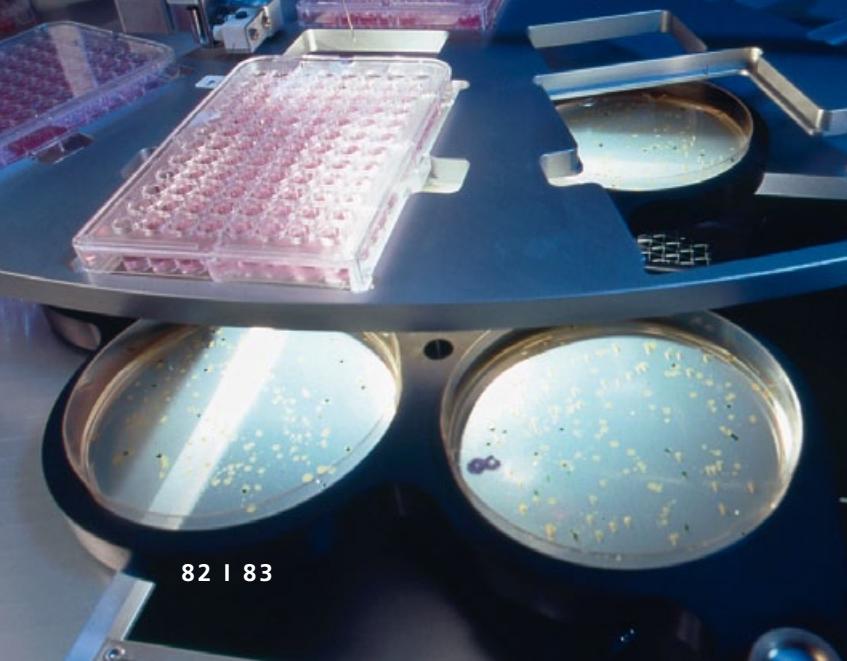


FRAUNHOFER-VERBUND LIFE SCIENCES

FOR SCHUNG FÜR DIE GESUNDHEIT UND DIE UMWELT DES MENSCHEN

Sechs Fraunhofer-Institute stellen die Lebenswissenschaften in den Fokus ihrer Forschung. Im Fraunhofer-Verbund Life Sciences bündeln sie ihre Kompetenzen in Biologie, Biomedizin, Pharmakologie, Toxikologie und Lebensmitteltechnologie. Mit rund 900 Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern stellt der Fraunhofer-Verbund Life Sciences einen wichtigen FuE-Partner für die Pharma- und Biotechnologiebranche ebenso wie für die Chemieindustrie und Medizintechnikunternehmen dar.

Die Fraunhofer-Institute für Biomedizinische Technik (IBMT), Grenzflächen und Bioverfahrenstechnik (IGB), Molekularbiologie und Angewandte Oekologie (IME), Toxikologie und Experimentelle Medizin (ITEM), Zelltherapie und Immunologie (IZI) sowie Verfahrenstechnik und Verpackung (IVV) führen ihr konzentriertes Know-how zusammen, um für ihre Kunden auch übergreifende Projekte erfolgreich durchführen zu können. Die Forschung und Entwicklung im Fraunhofer-Verbund Life



Sciences umfasst sowohl die präventiven Bereiche Umweltschutz und Verbraucherschutz als auch die regenerativen Bereiche medizinische Therapie und Umweltsanierung. Die Bandbreite an Methoden und Ausstattung, die der Fraunhofer-Verbund Life Sciences vereint, sucht in dieser Konzentration ihresgleichen.

Die Forschung im Fraunhofer-Verbund Life Sciences ist durch ihre Anwendungsnähe zur Industrie gekennzeichnet, um bedarfsoorientierte Lösungen für seine Kunden zu entwickeln. Zudem forschen die Institute auch an den Grundlagen, um so die Basis für zukünftige Anwendungen in der Industrie zu schaffen. Die Geschäftsfelder des Fraunhofer-Verbunds Life Sciences umfassen die medizinische Translationsforschung und Biomedizintechnik, die regenerative Medizin, gesunde Lebensmittel, Biotechnologie für die industrielle Nutzung sowie die Forschung für Sicherheit bei Prozessen, Chemikalien und Pflanzenschutzmitteln.

Es werden Wege aufgezeigt, Gesundheit und Umwelt in einer industrialisierten Welt zu erhalten und Möglichkeiten entwickelt, Krankheiten im Rahmen einer stärker personalisierten Medizin zu diagnostizieren und zu therapieren sowie die Umwelt zu sanieren.



KONTAKT

Fraunhofer-Verbund Life Sciences
Prof. Dr. Dr. Uwe Heinrich
(Vorsitzender)



Geschäftsstelle im Fraunhofer ITEM
Dr. Claus-Dieter Krogel
(Leiter der Geschäftsstelle)
Telefon +49 511 5350-103
Fax +49 511 5350-155
claus.krogel@vls.fraunhofer.de



FRAUNHOFER INSTITUTE FOR TOXICOLOGY AND EXPERIMENTAL MEDICINE ITEM

PERFORMANCE AND RESULTS

**ANNUAL REPORT
2010**

CONTENTS

Foreword	88

Profile of the Institute	90
Research topics	90
GXP – top-level quality	92
Range of research and services	93
Sponsors	95
Future areas of work	96
Facilities and equipment	97
Advisory Board	99
News in 2010	100
Staffing level development	102
Institute budget performance	103
Fraunhofer ITEM organizational chart	104

BUSINESS UNIT 1	
Drug Research and Development, Medical Biotechnology and Molecular Medicine	106

Perspective	
Pre-clinical testing in the 21 st century	110

Project Reports	
Developing a pre-clinical testing strategy for innovative inhalation biopharmaceuticals	114
Characterization of DNA-alkylating agents by MALDI-TOF mass spectrometry	118

Preliminary Research	
Detection of local genotoxicity in the lung	122

Project Overview	125

BUSINESS UNIT 2	
Clinical Airway Research	126

Project Reports	
Analysis of exhaled particles to diagnose and monitor the course of respiratory diseases	130
Surfactant protein D as a biomarker	133

Preliminary Research	
EU project EvA: Emphysema versus Airway disease	136
SMart Nose®: exhaled breath analysis using an electronic nose	137
Cellular therapy for bronchial asthma	138

Project Overview	139

BUSINESS UNIT 3	
Occupational and Environmental Toxicology and Consumer Protection	140
Project Reports	
Nanomaterials being put to the test	144
Derivation of threshold values for inhalation exposure	146
Local genotoxicity in the lung	148
Project Overview	151
Fraunhofer-Gesellschaft	164
Fraunhofer Group for Life Sciences	166
BUSINESS UNIT 4	
Testing and Registration of Chemicals, Biocides and Pesticides	154
Project Reports	
REACH: registration in practice	158
Authorization of biocidal products: applicants are facing new challenges	160
Project Overview	162
Names, Dates, Events	168
Publications	168
Doctorates	171
Degree dissertations	172
Bachelor's theses	173
Chairmanship at congresses and conferences	174
Invited lectures at congresses and conferences	175
Contributions to congresses and conferences	177
Active participation in committees	182
Research projects	186
Cooperation with institutions and universities	188
Visiting scientists	190
Exhibitions, congresses, and workshops	191

FOREWORD



Dear Reader,

Research for human health plays a pivotal role in the work performed at the Fraunhofer ITEM, and the construction of the Hannover Center for Translational Medicine (HCTM), scheduled to begin in 2011, will create the necessary infrastructure for conducting early clinical trials at top international level. The cooperative use of this center for medical translational research by the Fraunhofer ITEM together with the Hannover Medical School and the Helmholtz Center for Infection Research will make the HCTM a trendsetting facility in Germany's research landscape. The foundation stone will be solemnly laid on May 5, 2011, and on this occasion the Fraunhofer ITEM will also celebrate its 30th anniversary with its friends, promoters, clients, and employees.

During the past year, the way was furthermore paved for the institute's participation in two new German centers for health research. In December 2010, the federal government passed the national framework program for health research, thereby clearing the way for six national health centers that will be concerned with today's common diseases such as diabetes, neurodegenerative disorders, cancer, cardiovascular and pulmonary diseases, and infectious diseases. The ultimate goal of these centers for health research – which will pool the expertise of selected universities and non-university research institutions – is to translate research results into successful new therapies. The Fraunhofer ITEM will be participating in the center for pulmonary research and, via the HCTM, will also collaborate in the center for infection research.

The expertise in research on toxicological and pharmacological effects in the lungs that has been built up at the Fraunhofer ITEM over the past 30 years will thus be further promoted regarding the development of novel therapeutic products and technologies for the treatment of airway diseases.

Early clinical trials have been conducted at the Fraunhofer ITEM for ten years, and the institute is thus able to provide the proof of concept in man for new drugs targeting inflammatory and allergic respiratory diseases. The transition from the pre-clinical to the clinical development phase, which for a variety of reasons poses multiple problems in drug research and development, is an area of intense research at the Fraunhofer ITEM. How can the model systems used in the pre-clinical phase be improved in their predictivity for the tolerability and efficacy of new drugs

*Computer image of the
Hannover Center for
Translational Medicine (HCTM)*



in the human target organism, and how can, as a result, the probability for newly developed products to be eventually successful be increased in the early clinical trial phase?

The ultimate goal of medical translational research is to prove the efficacy and tolerability of a candidate drug in patients. Despite the rather small number of volunteers in such early clinical trials, these studies can be performed only if clinical investigational drug products manufactured in compliance with the German Drug Act and under certified GMP (Good Manufacturing Practice) conditions can be supplied. In particular for recombinantly manufactured biopharmaceuticals, however, the development of the manufacturing process and the subsequent GMP manufacture are often very demanding, and at this point in the drug development process it frequently happens – above all with publicly funded research projects, spin-off companies, and small and medium-sized pharmaceutical and biotech companies – that the translation process loses momentum or even comes to a halt. This is where the Fraunhofer ITEM with its Division of Pharmaceutical Biotechnology offers both the technical know-how to develop the manufacturing process and the necessary equipment and expertise to manufacture the clinical investigational drug products under GMP conditions, do the fill and finish according to the test-specific requirements, and release the drug products for use in clinical trials.

The Fraunhofer ITEM is thus a competent research partner for joint development projects in all phases of the pharmaceutical research and development process and also a provider of specific contract research services. An overview of our broad range of research topics and some examples of current research projects are given in this Annual Report 2010.

Our successful work would not have been possible without the commitment of the institute's staff, its promoters, the members of its Advisory Board, and its clients – I wish to thank all of these people and look forward to continued fruitful cooperation in the future.

A handwritten signature in black ink, appearing to read "U. Heinrich".

Prof. Dr. Dr. Uwe Heinrich
Executive Director



**30 years
of dedication to the future.**

PROFILE OF THE INSTITUTE

RESEARCH TOPICS

Protecting man from health hazards in our industrialized world and contributing to the development of novel therapeutic approaches – these are the aims of the Fraunhofer Institute for Toxicology and Experimental Medicine ITEM. A focus is on airway research: a wide range of airborne substances – pollutants but also pharmaceuticals – are taken up via the lungs. In collaboration with our clients from industry and public authorities we develop and test novel medications against respiratory diseases – in particular asthma, allergic rhinitis, and chronic bronchitis (COPD) –, study mechanisms of action, and determine the risks of potentially harmful substances. Due to our wide spectrum of expertise we are able to offer complete solutions – from the idea through to the product.

Our focus: lungs and airways

The respiratory tract is the focus of research at the Fraunhofer ITEM. In *in vitro* and *in vivo* models, primarily substances that are taken up via the airways are studied. These include single components, such as fibrous dusts or ultrafine particles and nanoparticles, but also complex mixtures that are encountered at the workplace or in the environment, as for instance exhaust gases from automobiles and coking plants, or bitumen fumes.

Testing and development of pharmaceuticals

With regard to inflammatory and allergic diseases of the respiratory tract the Fraunhofer ITEM offers research and development services from the molecular level up to clinical trials. Methods of cell biology and molecular biology are used to validate novel target structures for diagnosis and therapy and optimize these during early development stages. Once possible drug candidates have been identified, efficacy and safety tests

are performed. For drug registration in compliance with GLP (Good Laboratory Practice) regulations the Fraunhofer ITEM performs toxicological and safety pharmacological testing. The institute's Division of Pharmaceutical Biotechnology develops manufacturing processes for biopharmaceutical active ingredients. For clinical trials with biopharmaceuticals we manufacture the investigational drug product in compliance with GMP (Good Manufacturing Practice) guidelines. A GMP unit for the aseptic filling of infusion solutions is also available.

Clinical studies

For the registration of pharmaceuticals for the indications allergy, asthma, and COPD, the Fraunhofer ITEM conducts clinical studies, mainly of phases I-II, in compliance with GCP

Overview of topics

DIAGNOSIS AND THERAPY

Testing and development of medications and diagnostics

- Pharmacological and toxicological research and GXP studies
- Clinical research and development in the area of inflammatory and allergic airway diseases

PREVENTION

Analysis and assessment of potentially harmful substances

- Toxicological investigations, hazard and risk assessments; in particular for inhalable toxic substances
- Testing and registration of chemicals, biocides, and plant protection products

MECHANISTIC INVESTIGATIONS

- Pathogenesis of diseases
- Exogenous and endogenous active substances



(Good Clinical Practice) guidelines, managed by highly qualified physicians. The special equipment the institute disposes of for these studies includes different environmental exposure units. In the "Fraunhofer Environmental Challenge Chamber", which so far has been used to expose test subjects to grass pollen, tests with other allergens are also planned for the future.

Assessment of potentially harmful substances

Be it at workplaces, in the environment, or in consumer products – we detect toxic substances and evaluate the human exposure situation. Complex atmospheres can be reproduced on a laboratory scale. The Fraunhofer ITEM offers all types of investigations: from the analysis of airborne pollutants to the generation of appropriate test aerosols for *in vivo* and *in vitro* studies. To enable reliable risk assessment, inhalation studies and general toxicological studies are performed in cells, tissues, and organisms.

Risk assessment and registration of chemicals

Based on their own experimental results, literature searches, and data provided by clients, our scientists prepare reports on test substances and, if required, perform human exposure and risk assessments. In addition, the institute supports its clients in the registration of chemicals and complex mixtures and in the assessment of substances falling under the new European chemicals regulation REACH.

Expertise in measurement technology and process engineering: inhalable aerosols for health research

For inhalation studies, the comprehensive expertise and many years of experience of the aerosol technologists at the Fraunhofer ITEM are an essential prerequisite. Their know-how on the aerosolization of substances and on the deposition and kinetics

of inhaled substances is also used to develop pharmaceutical aerosols.

Pooling together expertise

The Fraunhofer ITEM cooperates with partner institutes within the Fraunhofer-Gesellschaft and also pools together its own expertise with that of external cooperating partners. This puts the institute in a position to offer an even broader range of research services. Important partners nearby the institute are, for example, the Hannover Medical School (MHH), the Braunschweig-based Helmholtz Center for Infection Research (HZI), and TWINCORE, a joint venture of MHH and HZI. It is in cooperation with the MHH and the HZI that the Fraunhofer ITEM is going to set up a new translational research center, the "Hannover Center for Translational Medicine" (HCTM). This will create an optimal infrastructure for early clinical trials (phases I and II) and will provide the basis for a stronger dovetailing of basic research and clinical research. Construction of the HCTM, an important constituent of the biomedical translational alliance in Lower Saxony (TrAiN), is scheduled to begin in 2011.

The institute has pooled its competences to form four business units:

- 1. Drug Research and Development, Medical Biotechnology and Molecular Medicine
- 2. Clinical Airway Research
- 3. Occupational and Environmental Toxicology and Consumer Protection
- 4. Testing and Registration of Chemicals, Biocides and Pesticides

GXP – TOP-LEVEL QUALITY

Quality assurance in the scientific sector is a main concern at the Fraunhofer ITEM. The Quality Assurance Unit (QAU) as one of the central services of the institute is responsible for putting into practice the GXP-based quality assurance program, thus supporting the institute's management in ensuring that the relevant quality standards are met.

The acronym GXP collectively refers to the quality assurance systems that are legally required and are subject to compliance monitoring by the authorities: GLP (Good Laboratory Practice), GCP (Good Clinical Practice), and GMP (Good Manufacturing Practice). These systems are to ensure that the procedures of drug development and manufacturing and of chemical safety testing are performed reliably and reproducibly and that the generated data are valid.

Over 15 years of Good Laboratory Practice

In non-clinical safety studies, the Quality Assurance Unit ensures compliance with all GLP requirements, the most important of which are:

- Clearly defined responsibilities within the test facility
- Meticulous planning of every study
- Correct documentation of all work steps and preparation of comprehensive reports

During the routine inspection of the Fraunhofer ITEM at the end of 2010, the competent authorities once again certified GLP compliance of the institute's facilities and of the studies performed.

Good Clinical Practice implemented in research

The clinical trials conducted by the Department of Clinical Airway Research at the Fraunhofer ITEM are performed under the GCP quality standards. The Quality Assurance Unit assists the clinical investigators in fulfilling their GCP responsibilities. It also ensures that the sponsor's responsibilities are met in trials initiated by the Fraunhofer-Gesellschaft (so-called "investigator-initiated trials"). Audits by sponsors confirm compliance of the Fraunhofer ITEM quality system with the GCP guidelines, which is ensured by appropriately training the study staff and by providing support in the preparation of the comprehensive process-specific documentation.

Good Manufacturing Practice in the Hannover and Braunschweig facilities

Manufacturing of investigational drug products to be used in clinical trials is subject to the requirements of GMP. In addition, the patient-specific dilution and aseptic filling of investigational drug products requires a GMP-compliant facility. The Quality Assurance Unit was strongly involved in establishing such a GMP facility at the Hannover site. In 2010, the GMP manufacturing authorization for the aseptic filling and finishing of investigational drug products was granted by the competent authorities, confirming successful implementation of the stringent GMP requirements.



RANGE OF RESEARCH AND SERVICES

The institute's Braunschweig-based Division of Pharmaceutical Biotechnology develops GMP-compliant processes for the manufacture of active biopharmaceutical ingredients and clinical investigational products, for which the Quality Assurance Unit provides ongoing support. The existing GMP manufacturing authorization for this facility has been further expanded in 2010.



CONTACT

Dr. Ilona Fleischhauer
Phone +49 511 5350-304
ilona.fleischhauer@item.fraunhofer.de

The services offered by the Fraunhofer ITEM to its clients are listed below, sorted into three categories: investigations into issues of preventive medicine, research into novel diagnostic techniques and therapeutic concepts, and investigations for drug registration and manufacturing purposes (pre-clinical and clinical trials).

Investigations into issues of preventive medicine

- Identification, quantification, and monitoring of pollutants and their sources in the environment, in private homes, and at workplaces
- Studies on the toxicological and genotoxicological effects and the mechanisms of action of airborne substances (fibers, particles, gases) upon inhalation
- Testing of exogenous substances for their toxic, genotoxic, allergenic, and irritant potentials
- Studies on the biopersistence of fibers
- Analysis and persistence testing of air pollutants
- Determination of hazardous substances and their metabolites in body fluids
- Bioavailability studies
- Research on DNA adducts
- Studies on the effects of harmful substances on lung function (for example, regarding obstructive or restrictive alterations, also in asthma and allergy models, or regarding the irritant potential by using the Alarie test)
- *In vitro* tests for toxicological and genotoxicological effects of inhalable, airborne substances (gases and aerosols)

- Aerosol measurement and characterization as well as generation of aerosols for experimental investigations
- Development of new methods for measuring aerosols with regard to their effects
- Estimation and modeling of aerosol deposition and kinetics in different species (including humans)
- Physical and chemical characterization of consumer sprays as well as studies on their potential hazards
- Toxicological and ecotoxicological assessments
- Human and environmental exposure assessments
- Risk assessments
- Toxicological investigations (according to OECD guidelines and in compliance with GLP) and special investigations, for example on mechanisms of action
- Preparation of dossiers on chemicals to support international activities related to risk assessment of substances (WHO, OECD)
- Notification, registration, and authorization of chemicals (REACH) and biocides (Biocidal Products Guideline)
- Development of structure-activity relationships and of substance categories for the endpoint repeated-dose toxicity by using the RepDose database

Research into novel diagnostic techniques and therapeutic concepts

- Investigations to elucidate the mechanisms of action in allergic inflammation
- Analysis of lung physiological, immunological, molecular biological, and histological parameters in murine models of allergic asthma
- Studies on possibilities of drug administration by inhalation

- Elucidation of mechanisms of action on the cellular and sub-cellular levels
- Bioanalytical investigations (metabolites, protein and DNA adducts, biomonitoring)
- Investigation of novel animal models using diagnostic radiology and molecular imaging (μ CT and μ PET)
- Identification of biomarkers for different pathological conditions
- Molecular diagnostics of gene polymorphisms
- Experiments on signal transduction and on regulation of gene expression
- Chip-based gene expression analyses
- Haplotype analyses
- Chemical screening of raw extracts from plants, bacteria, fungi, and animal organisms using LC-NMR-MS

Investigations for drug registration and manufacturing purposes (pre-clinical and clinical trials)

- Pre-clinical studies on pharmaceuticals (general toxicology, reproductive toxicology, immunotoxicology, genotoxicology) in compliance with regulations on drug registration
- Pre-clinical studies on pharmaceuticals in juvenile animals (juvenile toxicology)
- Studies on sub-chronic and chronic effects, in particular with regard to tumor formation, and on teratogenic effects
- Toxico-/pharmacokinetic studies on the absorption, distribution, and metabolism of pharmaceuticals in the organism, in organs, or in cell systems
- Inhalation challenge tests with allergens, particles, ozone, and endotoxin
- *In vitro* testing of pharmaceuticals in allergy models from human dendritic cells



- Safety pharmacological tests in rats and mice (focus on the respiratory tract)
- Pharmacological efficacy studies in viral, bacterial, and fungal infection models of the lung
- Studies on the effects of active pharmaceutical ingredients on lung function (for example in asthma, allergy, COPD, and infection models)
- Studies in molecular toxicology
- Studies in molecular medicine and pharmacogenetics
- Clinical trials (phases I and II, under GCP conditions) for the indications allergy, asthma, and chronic bronchitis (COPD)
- Collection, evaluation, and documentation of data for re-registration of human or veterinary drugs
- Development and validation of manufacturing processes for biopharmaceutical active substances and drugs
- Development of recombinant production cell lines
- Generation of master and working cell banks (MCBs and WCBs)
- Manufacturing of biopharmaceutical active substances for pre-clinical research
- GMP manufacturing of pilot batches of biopharmaceutical active substances and drug products for clinical trials

SPONSORS

The Fraunhofer ITEM has been collaborating successfully with partners and sponsors from virtually all sectors with interests or dealings in the fields of toxicology, biomedicine, and analytical and aerosol technology. These include:

- Pharmaceutical companies, which require new pharmaceutical agents to be developed and tested.
- Chemical companies, which require the toxicological properties and the environmental compatibility of their products to be tested for licensing purposes.
- Companies, industry federations, trade associations, and authorities, which require health risks to consumers, to employees at their workplaces, or simply to humans in their environment to be assessed.



FUTURE AREAS OF WORK

Recognizing technological trends and current market developments and adjusting accordingly the scope of services offered are among the hallmarks of the Fraunhofer ITEM's successful concept. Preliminary research projects and the resulting scientific findings and innovative technologies are just as beneficial to the institute's clients as in-depth studies and downstream projects. This is why the following work areas and competences have been newly established or further expanded:

- Development of validated *in vitro* screening tests to investigate the potential hazards and therapeutic use of nanoparticles, for example as delivery vehicles of therapeutic antibodies
- Development and validation of robust platform technologies for producing biopharmaceutical active ingredients based on recombinant antibodies and nucleic acids
- Development of adequate toxicological and safety pharmacological test systems for use in the registration of biopharmaceuticals in compliance with EMA (European Medicines Agency) requirements
- Non-human primates as a test model: development of pulmonary inflammation models (in collaboration with the German Primate Center in Göttingen, Germany)
- Further development of *ex vivo* techniques (precision-cut lung slices, PCLS) for investigating the effects of substances on human and monkey lungs (for example to determine the allergenic potential of chemicals, pharmaceuticals, and cosmetics)
- Immunological and histopathological examination of human sample material from the respiratory tract
- *In vitro* testing (screening) of airborne aerosols, including drug candidates
- Development of a procedure for automated specific detection and quantification of biogenic air pollutants
- Development of risk assessment strategies for chemical categories to support registration of chemicals under the new European chemicals regulation REACH
- Investigation of structure-activity relationships in toxicology (QSAR) and establishment of toxicological databases for the development of intelligent testing strategies in chemical risk assessment
- Imaging techniques (CT and PET) for use in animal experimental research on effects
- Implementation of exposure atmospheres with different allergens in the Fraunhofer Environmental Challenge Chamber
- Cell therapeutic approaches to modulating the allergic inflammation in bronchial asthma
- Development of novel biomarkers (ncRNA) for chronic obstructive airway diseases

FACILITIES AND EQUIPMENT

The research and service activities undertaken at the institute require comprehensive and partly highly specific equipment and facilities. These are listed in the following:

Laboratories

- Animal laboratory (including barrier husbandry for rodents under specific pathogen-free conditions)
- Animal facilities for inhalation toxicological investigations (whole-body inhalation chambers and nose-only inhalation units)
- Laboratories for research in infection models (S2)
- Genetic engineering laboratories (S1 and S2)
- Fraunhofer Environmental Challenge Chamber: environmental exposure unit for inhalation challenge studies with allergens
- Laboratories for lung function measurements
- Pilot plants for biological process development with bioreactors of up to 500 liters volume for cultivation of microorganisms and animal cells, as well as process chromatography and filtration systems for subsequent isolation of active ingredients

Special equipment

- GMP clean-room facilities for biotechnological manufacturing of biopharmaceutical drug substances for early clinical trials, licensed for manufacturing in compliance with §13 of the German Drug Act
- GMP clean-room facility for aseptic filling of investigational drugs for clinical trials (phases I and II) in compliance with §13 of the German Drug Act and Annex 1 to the EU GMP Guide

- Facilities for drug administration by inhalation in combination with lung function measurement and a dose control system (in animal models)
- Measurement unit to record lung functions of conscious rats and mice
- Specialized cell culture exposure equipment for *in vitro* testing of inhalable substances (for example gases and aerosols)
- Affymetrix station for transcriptome-wide gene expression analysis
- Proteome analysis systems
- Equipment for generation of test aerosols and gases
- Test duct for filter characterization
- Setups for studying high- and low-frequency electromagnetic fields in experimental animals (mice and rats)
- Databases for histopathology and reproductive toxicology

Devices and instruments

- Gamma radiation system (Cs 137) for *in vitro* and *in vivo* investigations
- Setups for computerized behavioral investigations (locomotor activity, auditory startle response)
- Micro-computed tomography (μ CT) and micro-positron emission tomography (μ PET)
- Cutting devices for creation of precision-cut liver and lung slices (PCLS)
- Cryostat for cutting frozen sections
- Flow cytometer for sorting and analyzing different cell types
- BIACORE system for determining receptor-ligand interactions
- Capillary electrophoresis for analyzing proteins and nucleic acids
- RT-PCR

- GMP plants for cultivating microorganisms in bioreactors with up to 400 L working volume
- Process chromatography and filtration systems
- Storage tanks for GMP-compliant N₂ gas-phase storage of cell banks
- Micro-dissection unit
- MALDI-TOF/TOF for protein identification and gene polymorphism analyses
- Multi-headed transmitted light microscope for 21 observers, with digital camera and projection unit
- Visual analysis software with microscope to support quantification of histopathological evaluations
- Confocal laser scanning microscope
- Multiphoton microscope
- Transmission and scanning electron microscopes with micro-probe facilities for energy-dispersive X-ray microanalysis (EDX) for aerosol-physical, chemical, and biological research
- Atomic absorption spectrometry, gas chromatography with mass spectrometry, HPLC with triple quadrupole mass spectrometry
- Laser diffraction spectrometer and particle image velocimetry (PIV) for characterization of spray dynamics
- High-speed camera (up to 100,000 pictures per second) for highly dynamic aerosol release processes
- Scanning Mobility Particle Sizer™ (SMPS) spectrometer for analysis of airborne nanoparticles
- 600-MHz high-resolution nuclear magnetic resonance (NMR) spectrometer coupled with HPLC and MS, including cryotechnology and peak-trapping unit
- Sulfur hexafluoride monitor for measuring indoor ventilation rates
- ZetaSizer®: measurement of hydrodynamic particle size distribution (nanoparticles) by dynamic light scattering and measurement of the Zeta potential

Scientific library

The specialized in-house scientific library holds approximately 15,000 books and has active subscriptions to 150 journals. It quickly and exhaustively provides the institute's staff with access to literature and information.



ADVISORY BOARD

The advisory boards of the individual Fraunhofer institutes act as purely advisory bodies to their institute's management. The members come from academia, industry, and government agencies. In 2010, the Board of the Fraunhofer ITEM was made up of the following members:

Dr. Eckhard von Keutz

Chairman of the Advisory Board
Senior Vice President, Global Head Early Development,
Bayer HealthCare AG

Professor Dr. Dieter Bitter-Suermann

Deputy Chairman of the Advisory Board
President and member of the Presidential Council
responsible for the Division of Research and Teaching
of the Hannover Medical School

Professor Dr. Helmut Blome

Director of the Institute for Occupational Safety and Health
of the German Institutions for Statutory Accident Insurance
and Prevention

Dr. Ulrich Deschl

Head of Nonclinical Drug Safety,
Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG

Professor Dr. Paul-Georg Germann

Senior Vice President, Nycomed GmbH

Professor Dr. Thomas Jung

Global Head Development Immunology & Infectious Diseases
Franchise a.i., Novartis Pharma AG

Dr. Günther Karmann

Managing Director, Karmann Consulting GmbH

Dr. Martin Kayser

Senior Vice President, Head of the Department of
Product Safety, Regulations, Toxicology and Ecology, BASF AG

Professor Dr. Hillel S. Koren

Managing Director, Environmental Health, LLC, USA

Professor Dr. Reinhard Pabst

Lower Saxony Senior Research Professorship
in Immunomorphology, Hannover Medical School

Professor Dr. Klaus F. Rabe

Internal Medicine – Pulmonology, Christian Albrechts
University of Kiel; Head of Pneumology, Medical Director
and Medical Executive Director, Grosshansdorf Hospital

Professor Dr. Gerhard Schlüter

Consultant in Toxicology, former Global Head Toxicology,
Bayer HealthCare AG

Ministerialrat Dr. Hans Schroeder

Head of Division for Science and Economy, EU Structural Funds,
Ministry for Science and Culture of Lower Saxony

Dr. Thor A. Voigt

Head of Global Clinical Operations, Biometrics &
Data Management,
Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG

Ministerialrat Dr. Ekkehard Warmuth

Head of Biotechnology, German Federal Ministry of Education
and Research (BMBF)
until June 30, 2010

NEWS IN 2010

EATRIS: European translational research network

The aim of translational research is to translate discoveries from basic medical research as quickly, safely, and cost-effectively as possible into medications and treatment options. Its functioning largely depends on the networking of research institutions, clinics, and pharmaceutical companies. The Fraunhofer ITEM has been consistently pursuing this policy, collaborating on the regional level in the Lower Saxony Translation Alliance (TrAiN) and on the European level in the EATRIS initiative "European Advanced Translational Infrastructure", which coordinates the foundation of translation centers in Europe. During this year's EATRIS conference in Rome, Italy, the Fraunhofer ITEM was represented by Professor Norbert Krug, head of the EATRIS working group on "Clinical Trials". There was consensus among the conference participants that an open infrastructure across borders will promote innovation in the area of biomedicine.

Asthma: new EU project initiated

"Understanding Severe Asthma" is the title of a recently approved EU project in which Fraunhofer ITEM scientists will be playing a major role. The project will be funded under the "Innovative Medicines Initiative" (IMI) and is thus part of a European program that brings together research institutions and pharmaceutical companies. The scientists are seeking to develop new models of severe asthma and are planning to perform pre-clinical and clinical trials. They will also be concerned with the impact of infections on asthma. A newly set up S2 laboratory at the Fraunhofer ITEM offers all the possibilities for working with infection models.



Transparency: doors opened to the public

"Hannover wants to KNOW" was the motto of a Hannover-wide series of scientific events in November 2010. During a whole month, universities and research institutions in Hannover demonstrated how fascinating science can be. The Fraunhofer ITEM participated with an open-house day, and about 300 visitors seized the opportunity to look over the shoulders of scientists. Guided tours and presentations left quite a few people amazed. For pupils interested in science, the Fraunhofer ITEM this year again offered a taster day, during which about 30 girls and boys got a first insight into airway research.



Preparation of clinical investigational drugs now on site

In April 2010, the Fraunhofer ITEM received regulatory approval for aseptic manufacturing of clinical investigational drug products according to § 13 of the German Drug Act: the institute's new clean-room facility in Hannover now enables the aseptic preparation of infusion solutions. The last gap in the development chain for novel pharmaceuticals at the Fraunhofer ITEM – the manufacturing of clinical investigational drug products for direct use in clinical trials – has thus been closed.

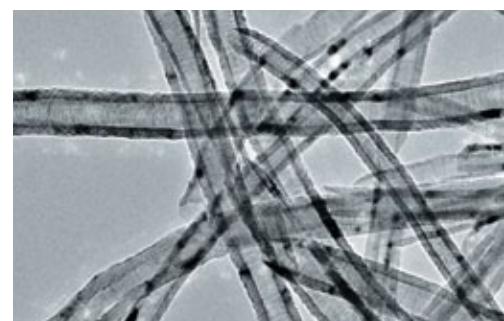


Fraunhofer ITEM is participating in two German centers for health research

The Fraunhofer ITEM will participate in the German centers for pulmonary research (DZL) and for infection research (DZI). In these centers, initiated by the German Federal Ministry of Education and Research (BMBF), the best universities and non-university research institutions are to collaborate and to contribute to accelerating the translation of research results from the laboratory into clinical practice. An overall concept is planned to be available in early 2011.

Nanomaterials: two new research alliances set up

Since the middle of the year, two new BMBF research alliances in which the Fraunhofer ITEM plays a major role have been concerned with the biological effects and possible risks of nanoparticles. The "CarbonBlack" alliance is exploring the risks posed by the tiny nanoparticles contained in carbon black, while in the "CarboTox" project scientists will investigate over the next few years the carcinogenic potential of fiber-like carbon nanotubes. The two projects form part of the BMBF support program "NanoCare", which is aimed at promoting the responsible handling of nanomaterials.



RIBOLUTION: new biomarkers for diagnosis and therapy

With RIBOLUTION, a project of the Fraunhofer Future Foundation, a cross-disciplinary research program in the area of molecular diagnostics has been initiated. Five Fraunhofer institutes, one of which is the Fraunhofer ITEM, have teamed up to explore a novel class of molecules for biomarker development: non-coding RNAs (ncRNAs). Due their high specificity, these molecules are expected to be excellently suited as biomarkers for disease diagnosis and treatment monitoring. In addition to developing automated methods that will enable a fast identification of biomarkers, the project is also aimed at finding markers for a variety of prototypical diseases. At the Fraunhofer ITEM, it is planned to develop a prognostic biomarker of chronic obstructive pulmonary disease (COPD).

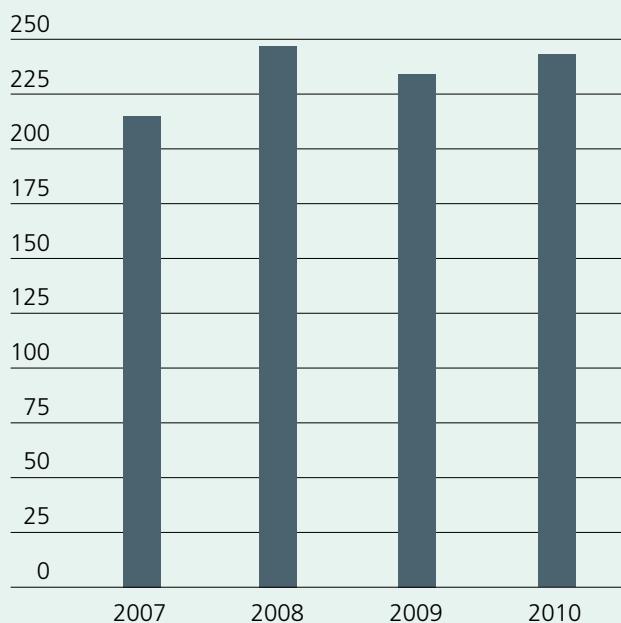
STAFFING LEVEL DEVELOPMENT

At the end of 2010, 244 people were employed at the Fraunhofer ITEM. The following list gives the numbers of employees by occupational groups:

81 scientists
70 graduates
74 technical staff
2 Ph. D. students
3 laboratory assistants
4 other assistants
10 apprentices

Staff of the Fraunhofer ITEM

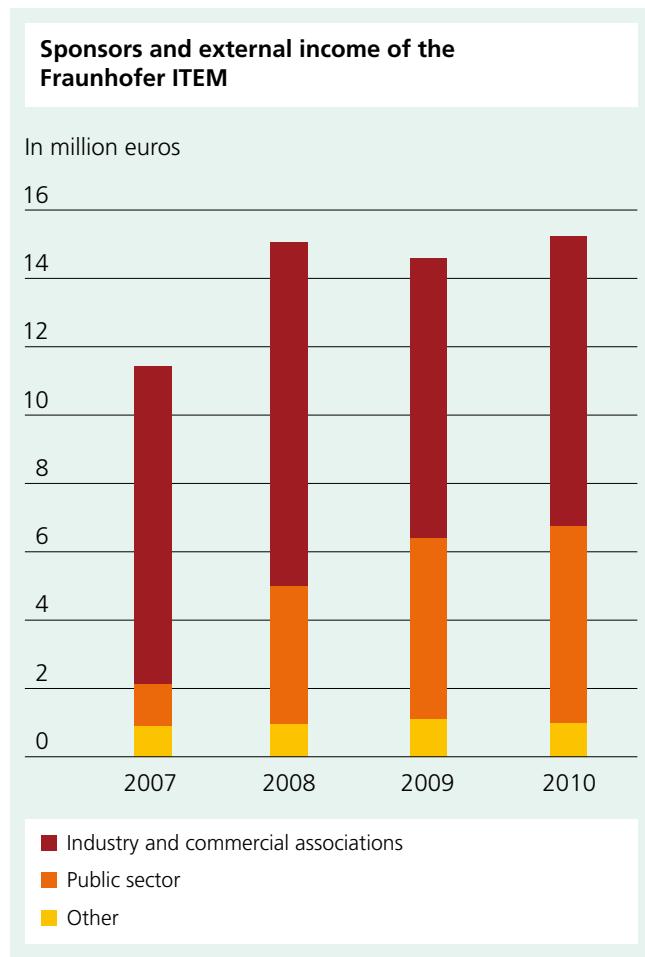
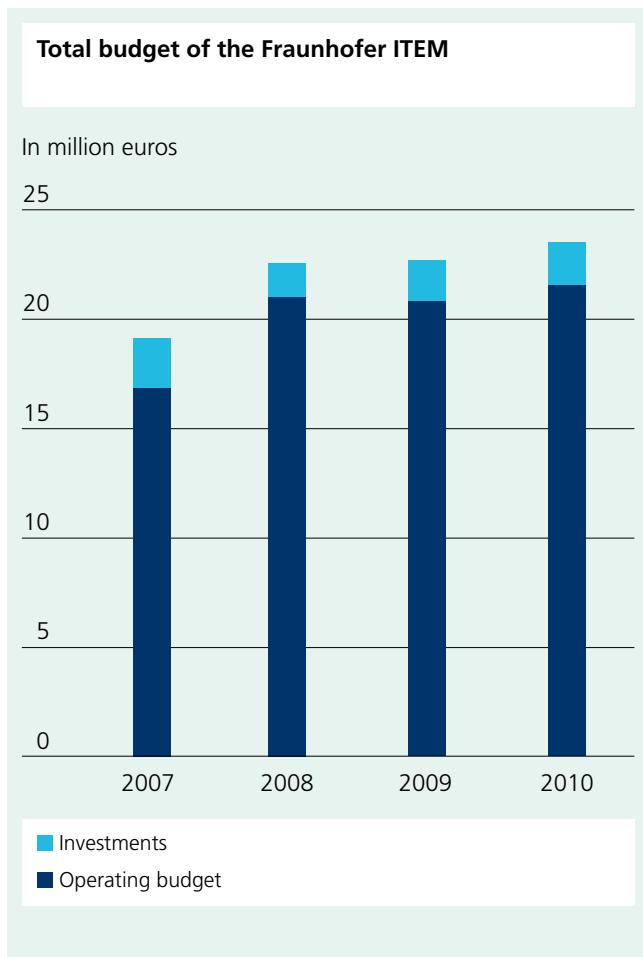
No. of employees



INSTITUTE BUDGET PERFORMANCE

In 2010, the institute budget reached a level of approximately 21.6 million euros*. Financing by acquired funding made up approximately 63%. The share of industrial income was approximately 48%.

Investments of the Fraunhofer ITEM amounted to more than 2 million euros.



* preliminary figures, valid at the time of printing

FRAUNHOFER ITEM ORGANIZATIONAL CHART





This organizational chart gives you the contact persons for the institute's divisions, departments, and competences at a glance. The Division of Pharmaceutical Biotechnology is based in Braunschweig, but is also responsible for the Fraunhofer ITEM GMP clean-room facility in Hannover. The Fraunhofer

Project Group is based in the BioPark Regensburg and was set up as a joint initiative of the Fraunhofer ITEM/Fraunhofer-Gesellschaft and the University of Regensburg. The institute currently operates in four business units, which will be presented in the second part of this Annual Report.

BUSINESS UNIT 1

DRUG RESEARCH AND DEVELOPMENT, MEDICAL BIOTECHNOLOGY AND MOLECULAR MEDICINE



**DRUG RESEARCH AND DEVELOPMENT,
MEDICAL BIOTECHNOLOGY AND
MOLECULAR MEDICINE**

Perspective

**Pre-clinical testing in the
21st century**

Project Reports

**Developing a pre-clinical
testing strategy for
innovative inhalation
biopharmaceuticals**

**Characterization of
DNA-alkylating agents
by MALDI-TOF mass
spectrometry**

Preliminary Research

**Detection of local
genotoxicity in the lung**

The business unit Drug Research and Development, Medical Biotechnology and Molecular Medicine pools the institute's competences that are required for the development of novel active pharmaceutical ingredients, their pre-clinical and safety-pharmacological testing, and for their biotechnological production (biopharmaceuticals).

All necessary phases of the drug development process can be performed: from first molecular structures via investigations in cells, tissues, and organs, up to animal models (and clinical trials in volunteers, see business unit Clinical Airway Research, page 126).

For the discovery of novel target structures for diagnosis and therapy and for the development of new therapeutic concepts, numerous molecular-biological methods from the fields of genomics, proteomics, and metabolomics are available. Tailored molecular-biological investigations enable the detection of unwanted side effects of pharmacological agents already at an early stage of drug development, the finding of mechanistic explanations for these, and the elimination or reduction of such effects wherever possible, for example by further substance optimization or by changing the route of administration.

For pre-clinical testing, *in vitro* methods are frequently used. Not only classical *in vitro* methods and investigations in transgenic cell lines are employed, but in addition methods are developed which, for example by means of viable lung slices, enable species comparisons via monkeys even up to humans. Safety tests for biopharmaceuticals, such as human recombinant antibodies, require special test systems in order to allow for unwanted immunological effects to be detected and ruled out with the greatest certainty possible prior to first trials in man. To this end, experimental approaches are developed which reflect possible immunological responses of the human organism as accurately as possible.

For numerous research issues and for pharmaceutical testing *in vivo* studies continue to be mandatory and required by legislation. The Fraunhofer ITEM offers the following investigations:

- Toxicity studies in rodents and non-rodents
- Toxicity studies in juvenile animals (juvenile toxicology)
- Toxico- and pharmacokinetics studies
- Investigations to detect subchronic and chronic toxic effects
- Identification of carcinogenic, teratogenic, or mutagenic effects
- Safety-pharmacological studies
- Investigations in asthma, allergy, inflammation, and infection models
- Measurement of lung function parameters in rodents (invasive and non-invasive)

State-of-the-art imaging techniques such as micro-computed tomography and micro-positron emission tomography are used if necessary, for example to demonstrate target binding and the treatment success of novel pharmaceuticals.

Both *in vitro* and *in vivo* studies are conducted in compliance with current GLP guidelines. In addition to experimental studies, the Fraunhofer ITEM offers its clients assistance in meeting the requirements of the pharmaceutical registration process, including the necessary documentation.

In the area of pharmaceutical biotechnology, the Fraunhofer ITEM develops and validates manufacturing processes for active biopharmaceutical ingredients. These can be manufactured for pre-clinical and clinical trials according to GMP quality standards, whenever required. The range of active ingredients that can be produced includes proteins, glycoproteins, antibodies, nucleic acids, virus-like particles, and bacteriophages. There is already a great demand for GMP-grade therapeutic antibodies, and a similar situation is foreseeable for nucleic acids. Therefore, robust platform technologies that enable fast GMP manufacturing of those compounds are being developed at the Fraunhofer ITEM.

CONTACTS



Prof. Dr. Jürgen Borlak
Phone +49 511 5350-559
juergen.borlak@item.fraunhofer.de



Dr. med. vet. Rainer Fuhrst
Phone +49 511 5350-454
rainer.fuhrst@item.fraunhofer.de



Dr. Holger Ziehr
Phone +49 531 6181-6000
holger.ziehr@item.fraunhofer.de

Perspective

PRE-CLINICAL TESTING IN THE 21ST CENTURY

INTRODUCTION

"The solution to using fewer animals and making better predictions in the mid-term is to design integrated testing strategies," claimed Thomas Hartung in his 2009 *Nature* paper. Being the former head of the European Center for the Validation of Alternative Methods (ECVAM) and now involved in the transatlantic think tank CAAT-EU, Hartung recently developed a controversially discussed vision of new toxicological testing strategies for the 21st century. This article will give you an idea of what these new strategies may look like and of the path the Fraunhofer ITEM will take in pre-clinical research.

Why do we need to develop new toxicological testing strategies for the 21st century?

There are two major reasons. Firstly, classical toxicological testing was developed to predict toxicity of the known chemical entities. Newly developed pharmaceuticals are fundamentally different. They include highly specific biological entities, often active solely in humans. Secondly, there is an increased public awareness of animal testing and the wish to reduce animal use for research purposes.

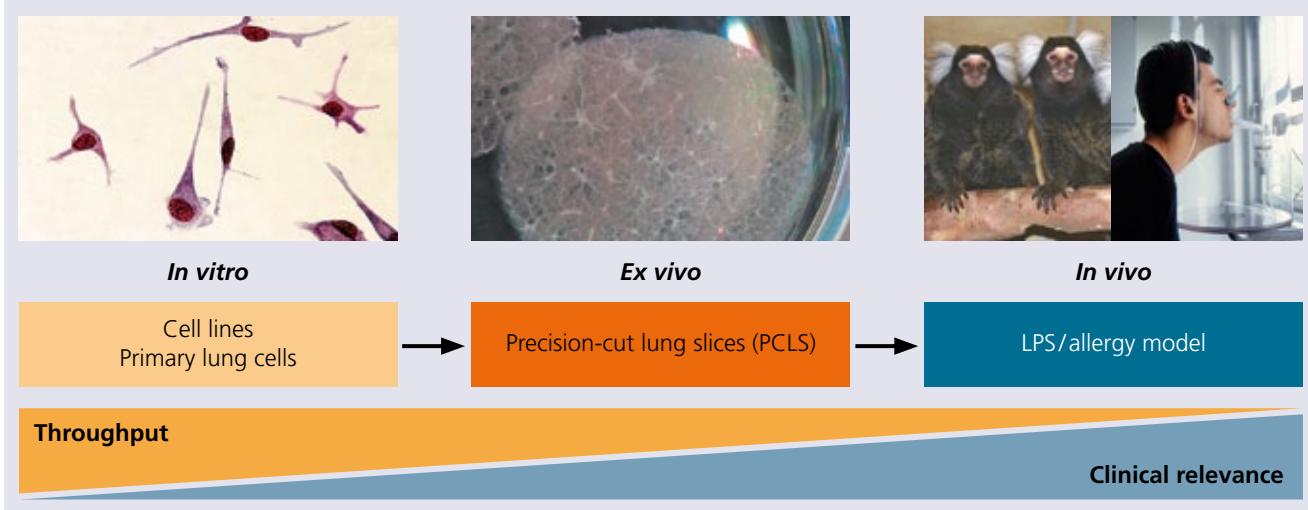
Is this also true for pre-clinical efficacy testing?

The same problems as seen for toxicology apply to pre-clinical efficacy testing. In the field of respiratory diseases, the predictiveity of common animal models such as prevalent murine ovalbumin-based asthma models is very limited. Although pharmaceutical companies developed a wide range of highly specific immune modulators such as anti-IL4, anti-IL5, and anti-IgE which were effective in mice, their clinical efficacy in human asthma was very disappointing.

What is the Fraunhofer ITEM's avenue to the future?

Our strategy is based on the above mentioned idea to use integrated testing strategies. Interestingly, these models lead to a conflation of toxicology and efficacy testing. Following this idea a tiered approach was developed for the development of respiratory drugs (Fig. 1). The concept of this strategy is to use human *in vitro* or *ex vivo* systems wherever possible and animal experiments only for the final proof of concept.

Fig. 1: Tiered approach for pharmacological and toxicological testing of new drugs.



For *in vitro* testing we developed, for example, a human *in vitro* allergy model based on dendritic cells that can be used for testing of immunomodulatory drugs (Knothe, S., 2010). This model is currently being extended to test cell therapy approaches based on regulatory T-cells. For *ex vivo* testing the precision-cut lung slices (PCLS) technology has been developed. The PCLS model offers the unique opportunity to test the efficacy and toxicity of biological agents intended for use by inhalation in a complex setting in human tissue preparations (Switalla, S., 2010 a). The first step in the testing of new substances in PCLS is always the determination of the toxic threshold of the test substance, that is, the concentration above which it will

induce either inflammation or cell death. Subsequently, pharmaceutical efficacy is tested in a subtoxic concentration range. For testing of immunomodulatory drugs inflammation models using lipopolysaccharide (LPS) or ozone as stimuli can be used (Switalla, S., 2010 a, b). In addition, bronchoconstriction models in PCLS are currently under development.

Do we still need animal experiments?

For reasons of safety, regulatory authorities will continue to require animal experiments in the future. The replacement of classical, well established methods is a long way to go.

However, it is possible already today to reduce the number of animals needed. In a project concerning the lung toxicity of nanoparticles intended to be used as drug carriers, a tiered approach was performed. In a first set of experiments, the toxic effect of these Solid Lipid Nanoparticles (SLN) was investigated in a human epithelial cell line (A 549). Based on the results, an adequate dose for further testing was calculated and tested in murine PCLS. Although the sensitivity of this system was higher than that of the cell line used, both approaches demonstrated toxic effects of SLN within a comparable range. Based on these data, a dose assessment for *in vivo* testing could be performed without further experiments in living animals. The final inhalation study in mice was performed only with the preselected doses, leading to significantly reduced animal numbers.

What kind of animal models will be needed?

The most important issue will be the predictivity for human health effects. For this purpose, regulatory guidelines such as ICH S6 prescribe the use of "relevant species" for pre-clinical testing. In many cases, determination of an adequate model appears to be challenging due to the high specificity of the drugs and anatomical and physiological interspecies differences. Scientists at the Fraunhofer ITEM have established a whole-blood *in vitro* assay in different species (mouse, rat, different monkeys, and human) allowing the relevant species for immunomodulatory drugs to be determined by value conformation. In case of drugs intended for inhalation, further testing can be performed in PCLS of all the species mentioned above. However, in the end biopharmaceutical testing requires final proof-of-concept studies *in vivo*. For this purpose and in addition to well established rodent models we have developed a new LPS-induced lung inflammation model in the non-human primate marmoset (a commonly used laboratory monkey) in co-operation with the German Primate Center (DPZ) in Göttingen.

How will animal experiments with non-human primates be performed in the future?

For ethical reasons, the use of primates for pre-clinical research is a very sensitive issue. There is intense discussion about the justification of such experiments. At the current stage of development, we think that experiments using primates are mandatory for the development of new biopharmaceuticals to ensure safety and efficacy of the drugs. The reason why is that novel biopharmaceuticals contain highly specific active ingredients which are effective only in humans and in other primates. To minimize ethical concerns, the Fraunhofer ITEM has developed protocols for the marmoset experiments that are very similar to the protocols used for clinical proof-of-concept studies in humans and which exclude clinical symptoms and behavioral occurrences. This accounts for ethical concerns and furthermore enables good comparability to human studies. At the DPZ in Göttingen, animals are treated by segmental application of LPS to induce local inflammatory effects in the airways. A lavage of the relevant lung segment is performed 24 hours later. Immunological reactions fade away within two weeks and animals return to their home cages. The effect of pharmaceuticals on inflammation can then be monitored in lavage fluid without killing the animals. Classical drugs such as dexamethasone and newly developed drugs such as roflumilast have already proven anti-inflammatory effects in this model. Further steps to minimize discomfort and distress for the animals will be the non-invasive monitoring of inflammation by imaging techniques which are currently being developed.

We believe that animal experiments based on non-human primates will continue to be necessary until predictive *in vitro* methods will have been developed. However, the assignment of animals for pre-clinical and toxicological issues will be further optimized. In the future, the aim will be to treat

animals as far as possible like human volunteers in clinical trials.

What will pre-clinical testing in the 21st century look like at the Fraunhofer ITEM?

Early involvement of human *in vitro* and *ex vivo* models will provide early evidence about the toxicological and efficacy profiles of newly developed pharmaceuticals. Especially progress in tissue engineering will enable the construction of improved *in vitro* test systems. These systems will be further developed by the Fraunhofer ITEM in close cooperation with the Hannover Medical School.

References

- Hartung, T. (2009) Toxicology for the twenty-first century. In: Nature 460 (7252): 208-12
- Knothe, S.; Mutschler, V.; Rochlitzer, S.; Winkler, C.; Ebensen, T.; Guzman, C. A.; Hohlfeld, J.; Braun, A.; Muller, M. (2010) Local treatment with BPPcysMPEG reduces allergic airway inflammation in sensitized mice. In: Immunobiology, May 8 (Epub)
- Switalla, S.; Lauenstein, L.; Prenzler, F.; Knothe, S.; Förster, C.; Fieguth, H. G.; Pfennig, O.; Schaumann, F.; Martin, C.; Guzman, C. A.; Ebensen, T.; Müller, M.; Hohlfeld, J. M.; Krug, N.; Braun, A.; Sewald, K. (2010 a) Natural innate cytokine response to immunomodulators and adjuvants in human precision-cut lung slices. In: Toxicology and Applied Pharmacology, Apr 29 (Epub)
- Switalla, S.; Knebel, J.; Ritter, D.; Krug, N.; Braun, A.; Sewald, K. (2010 b) Effects of acute *in vitro* exposure of murine precision-cut lung slices to gaseous nitrogen dioxide and ozone in an air-liquid interface (ALI) culture. In: Toxicology Letters 196 (2): 117-243



CONTACT

Priv.-Doz. Dr. Armin Braun
Phone +49 511 5350-263
armin.braun@item.fraunhofer.de

Project Report

DEVELOPING A PRE-CLINICAL TESTING STRATEGY FOR INNOVATIVE INHALATION BIOPHARMACEUTICALS

SUMMARY

The role of biopharmaceuticals will further expand in the future. Unlike for chemicals, there are no fixed guidelines regulating their pre-clinical testing. The overall testing strategy, however, is defined by a framework of guidelines focusing on the key points required for the registration process, but allowing a much more flexible, case-by-case approach. This situation is a real challenge for both the industry developing such pharmaceuticals and for the corresponding testing facilities which support the industry in achieving the prerequisites for first-in-man testing. This report describes a real-life example of a testing strategy which was developed in close contact with an industrial partner and was presented during a scientific advice meeting at the German Federal Institute for Drugs and Medical Devices (BfArM), who finally accepted the suggested approach.

The guideline framework

The most relevant guidelines for this pre-clinical testing process can be accessed via the homepage of the European Medicines Agency (EMA, see below), with ICH Topic S6 (R1) being of particular importance. The purpose of this addendum is to provide clarification on the S6 guideline, in particular with regard to the following topics discussed in the original ICH S6: species selection, study design, immunogenicity, reproductive and developmental toxicity, and assessment of the carcinogenic potential. The scope of S6 (R1) includes in particular active substances such as cytokines, plasminogen activators, recombinant plasma factors, growth factors, fusion proteins, enzymes, receptors, hormones, monoclonal antibodies, recombinant DNA protein vaccines, synthesized peptides, plasma-derived products, endogenous proteins from human tissues, and oligonucleotide drugs.

In brief, S6 (R1) states that testing strategies should be scientifically justified and should be selected on a case-by-case basis. Within this framework, pre-clinical safety studies should consider selection of the relevant animal species, age, physiological state, manner of delivery, dose, route of administration, treatment regimen, stability of the test material under the conditions of use, and GLP in general.

A special case: an oligonucleotide

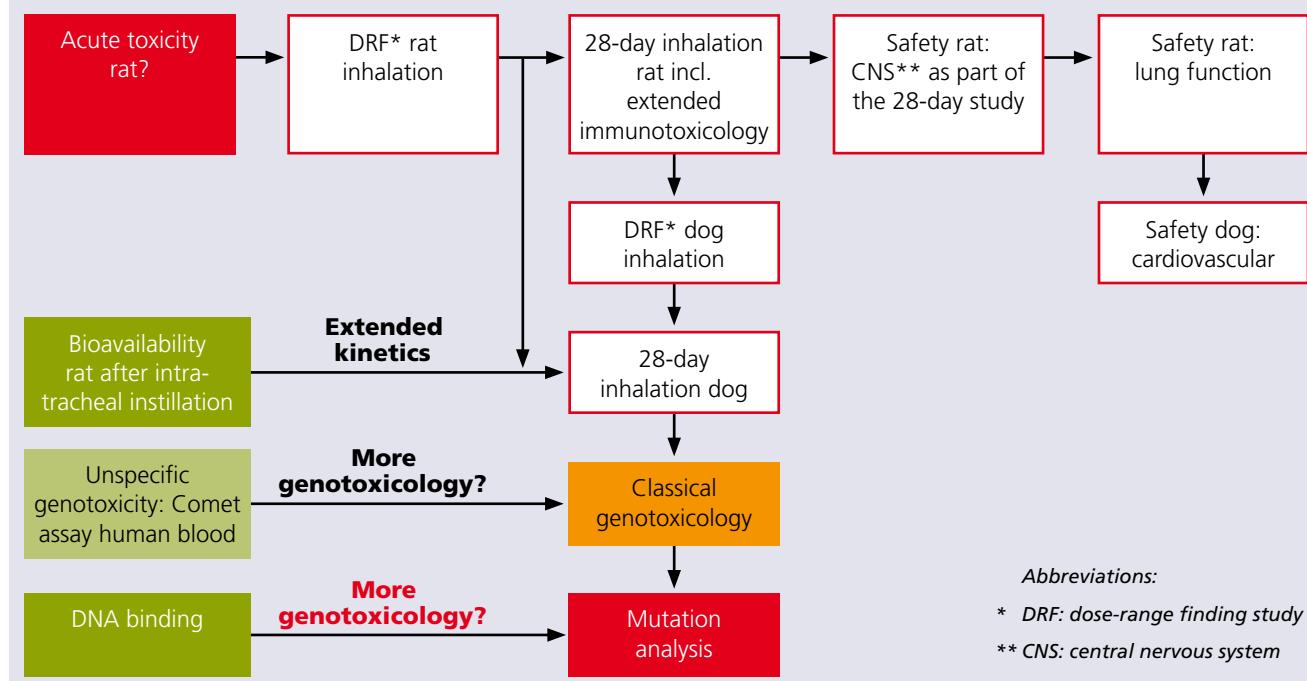
In the present case, the task was to develop a pre-clinical testing strategy for an oligonucleotide intended to be used as an innovative anti-asthmatic inhalation drug, and this strategy should finally form the basis for first-in-man clinical testing. An outline of the developed strategy is given in Figure 1.

Selection of the relevant species and route of administration was the first step. Based on the fact that the assumed mode of action of the drug under investigation would be applicable

in the routine species for toxicity testing, rat (rodent) and dog (non-rodent), we decided to select exactly these species. An alternative non-rodent species would have been the minipig. As the intended route of administration in humans is inhalation, it was decided to select this route also for the repeated-dose toxicity studies.

Due to the type of biopharmaceutical to be tested, namely a DNAzyme, genotoxicity testing presented a special challenge. Based on the "Reflection Paper on the Assessment of the Genotoxic Potential of Antisense Oligodeoxynucleotides"

Fig. 1: Pre-clinical testing strategy for a particular oligonucleotide.



(CHMP/SWP/199726/04, January 2005), it was decided to consider two different modes of action, namely unspecific genotoxicity (clastogenicity) and gene-specific genotoxicity (mutagenicity). For testing for unspecific genotoxicity, the Comet assay in unstimulated and stimulated human blood was chosen. In case of a negative result, no unspecific genotoxicity would have to be expected, however, this would provide no information on gene-specific genotoxicity. In case of a positive result (unspecific clastogenicity) classic genotoxicity test(s) would be applicable. Gene-specific genotoxicity as a second possible mode of genotoxic action would be conceivable via triple helix formation and subsequent gene-specific mutation(s) in the target gene. Triple helix formation, however, would require gene-specific binding activity. Since the performed DNA binding studies were all negative, there was no indication of gene-specific genotoxic action of the oligonucleotide.

Investigating single-dose toxicity was not considered necessary for the present biopharmaceutical, in particular due to animal welfare reasons and the limited value of this study type in the case of biopharmaceuticals. Instead, it was proposed to test relatively high doses in a 14-day dose range finding (DRF) study in rats which had to be performed for the subsequent repeated-dose (28-day) toxicity study in rats. For both these studies nose-only/head-only inhalation was selected as route of exposure. The endpoints included routine parameters as well as an extended set of additional investigations on immunotoxicity. These in turn included standard parameters (total number of leukocytes, cell differentiation, globulin, IgA/IgG, lymphatic organ weights, histopathology, and determination of IgG and IgA in serum at two time points) and also functional investiga-

tion of potential adverse effects on the T-cell-dependent antibody response (immune status in blood and spleen, lymphocyte proliferation, and cytokine secretion).

For the second species, based on the results of a previous DRF study head-only inhalation was chosen as route of exposure for the repeated-dose (28-day) toxicity study in dogs. This study will focus on routine endpoints (body weight, food and water consumption, clinical observations, ECG, hematology, clinical chemistry, necropsy, complete histopathology of all animals, and toxicokinetics).

Safety pharmacology studies include on the one hand investigations of the respiratory system by measuring lung function in rats after inhalation exposure with the following endpoints: non-invasive lung function measurement (head-out plethysmography), tidal midexpiratory flow (EF50), midexpiratory flow, respiratory frequency, tidal volume, times of inspiration and expiration. On the other hand, safety pharmacology of the cardiovascular system was investigated after intravenous administration to trained dogs with subsequent measurements of ECG and blood pressure at different time points up to six hours after infusion including kinetics. In addition, safety pharmacology of the central nervous system was studied as part of the 28-day repeated-dose inhalation toxicity study in rats, during the last week of which a Functional Observational Battery (FOB) was applied and locomotor activity parameters were measured.

Outlook

The presented case-by-case approach was established in close cooperation with the sponsor, sterna biologicals, Marburg, Germany, presented to the BfArM during a scientific advice meeting, discussed on this occasion, and finally fully accepted by the authority. The described pre-clinical studies are currently ongoing.

References

ICH topic M 3 (R2): Non-Clinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals (CPMP/ICH/286/95), December 2009

CPMP/SWP/1042/99 Rev 1: Guideline on repeated dose toxicity, March 2010

ICH Topic S6 (R1): Preclinical safety evaluation of biotechnology-derived pharmaceuticals (CPMP/ICH/302/95), Step 3, November 2009

The most important guidelines can be accessed via the following website:

[http://www.ema.europa.eu/htms/human/humanguidelines/
nonclinical.htm](http://www.ema.europa.eu/htms/human/humanguidelines/nonclinical.htm)



CONTACTS

Dr. Rainer Fuhst
Phone +49 511 5350-454
rainer.fuhst@item.fraunhofer.de



Priv.-Doz. Dr. Holger Garn
(sterna biologicals, Marburg, Germany)
Phone +49 6421 98300-50
holger.garn@sterna-biologicals.com

Project Report

CHARACTERIZATION OF DNA-ALKYLATING AGENTS BY MALDI-TOF MASS SPECTROMETRY

SUMMARY

Metabolic activation of polycyclic aromatic hydrocarbons can lead to intermediates that cause the formation of DNA adducts. These induced adducts can result in carcinogenesis. Researchers therefore have long been trying to develop a rapid and reliable method allowing precise analysis of such adducts. Based on mass spectrometry, scientists at the Fraunhofer ITEM have now developed a method of high sensitivity that permits identification of the chemical agent and characterization of the DNA adducts at the same time.

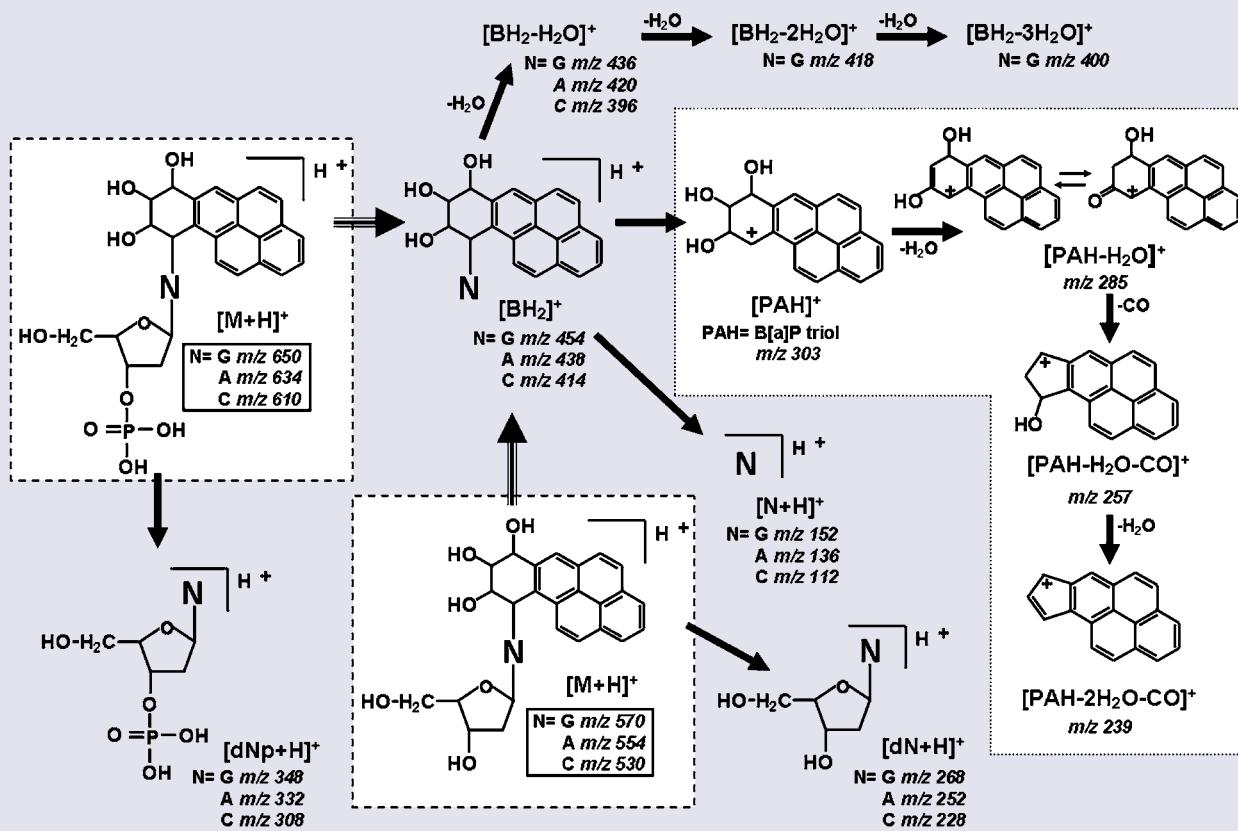
Introduction

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) are ubiquitous environmental pollutants which are primarily formed by incomplete combustion of organic matter, such as automobile exhaust emissions, tobacco smoke, and coal tar, but are also generated by cooking of charred or grilled food. While PAH are not carcinogenic *per se*, metabolic activation leads to intermediates that might react with nucleic acids and proteins, leading to DNA, RNA, and protein adducts. Estimates suggest up to 50,000 DNA damage events per day. While DNA repair enzymes remove DNA adducts efficiently, non-repaired lesions remain which may cause mutations to initiate malignant transformations. Exposure to PAH, therefore, has been linked to lung, skin, and bladder cancer.

There are different mechanisms of PAH activation, yielding dihydrodiol epoxide (DE) intermediates. The ultimate reactive DE species consists in electrophiles that covalently react by cis or trans addition with the exocyclic amino group of the DNA bases. Studies on PAH metabolism, DNA binding, mutagenicity, and cell transformation assays demonstrated that PAH such as benzo[a]pyrene (B[a]P), chrysene, benzo[c]chrysene (B[c]Ch), benzo[c]phenanthrene (B[c]Ph), 5-methylchrysene, and di-benzo[a,l]pyrene react with amino groups of the purine bases as preferential alkylating sites. Typical targets in DNA are the N² exocyclic amino group of guanine, the N⁶ of adenine, and



Fig. 1: Proposed MALDI-MS/MS-CID fragmentation pathway of B[a]PDE-2'-deoxynucleosides and B[a]PDE-2'-deoxynucleoside 3'-phosphate. G: guanine, A: adenine; C: cytosine.



to a lesser extent the N⁴ exocyclic amino group of cytosine. The molecular structure of PAH is an important determinant of their biological activity, as the metabolically activated epoxides display different carcinogenic properties, depending on whether their steric position is in a bay or a fiord region.

Aim

Much research has been invested for an identification of PAH-induced DNA adducts and included HPLC separation techniques coupled with ultraviolet or NMR, circular dichroism (CD),

UV-visible spectroscopy, fluorescence spectroscopy, and immunoassays. The most common method used for the sensitive detection of DNA adducts, however, is the ^{32}P -postlabeling assay. This method involves the reduction of genomic DNA to single deoxynucleoside-3'-monophosphate by enzymatic hydrolysis. Enzymatic transfer of radiolabeled phosphate groups from $[^{32}\text{P}]$ ATP to nucleotides, followed by multidimensional thin-layer chromatography (TLC) then allows the separation and detection of modified nucleotides. This method is widely used, which is primarily due to the small amounts of DNA required and its high sensitivity: one adduct per $10^6\text{-}10^8$ non-adducted nucleotides (5 µg DNA) can be detected. On the other hand, this method is laborious and presents significant inter- and intra-laboratory variations. In addition, the chemical nature and molecular structure of the alkylating agent cannot be determined with this method. There is thus a need for a method of high sensitivity that permits chemical identification and characterization of the DNA adducts at the same time.

The solution developed

Mass spectrometry (MS)-based methods have been developed for the study of PAH-induced DNA adducts, based on liquid chromatography (LC), capillary LC, or capillary electrophoresis (CE) and coupled to electrospray ionization (ESI) and tandem mass spectrometry (MS/MS). For example, LC-ESI/MS/MS has been used for the structural characterization of B[a]P-derived DNA adducts formed upon the reaction of B[a]PDE with naked DNA, or for studying cell lines and tissue extracts from mice that had been exposed to alkylating agents. Nonetheless, these methodologies have some limitations, for example, large amounts of sample required, extensive liquid-liquid extraction, time-consuming HPLC or chromatographic purification, as well as expensive instrumentation. Furthermore, the full product

ion scan mode used for this mass spectrometric analysis cannot be employed for the characterization of unknown DNA adducts at trace level, because of the slow scan rate and the low sensitivity in this scan mode. Alternatively, the analysis could rely on the characteristic retention times, but searches based on selected reaction monitoring (SRM) do not permit *de novo* identification of DNA adducts. Taking all these limitations into account, the availability of a sensitive, accurate, and reliable methodology for the molecular characterization would be of great interest. To this end, a method referred to as MALDI-TOF-MS (MALDI being the abbreviation of Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization) has rapidly become a valuable technique for the analysis of a wide range of molecules with sensitivities in the attomole range.

Therefore, a simple and reliable method that employs MALDI-TOF-MS with 2,5-dihydroxybenzoic acid (DHB) matrix layer (ML) sample preparations for the detection and structural characterization of PAH-induced DNA adducts was developed. The method involves the enzymatic digestion of DNA to 2'-deoxynucleotides followed by a newly developed solid-phase extraction procedure to remove salt and other contaminants prior to MALDI-MS analysis. By collision-induced dissociation (CID) structurally relevant fragments are obtained to permit characterization of the alkylating molecules and the adducted nucleotide. Next to guanosine adducts, adenine and cytidine adducts formed from reactions with (\pm)-*anti*-benzo[a]pyrene-7,8-diol-9,10-epoxide (B[a]PDE) are identified at a sensitivity of < 100 fmol and a mass accuracy of < 10 ppm. Studies with (\pm)-*anti*-benzo[c]chrysene-9,10-diol-11,12-epoxide (B[c]ChDE) further document the versatility and usefulness of the method. When compared with the ^{32}P -postlabeling assay MALDI-MS only identified deoxycytidine as well as nucleoside and dinucleotide adducts. Consequently, this sensitive method enables

molecular specification and characterization of adducted nucleotides and of the alkylating agent, and thus provides comprehensive information that is beyond the results yielded by the ^{32}P -postlabeling assay.



CONTACT

Prof. Dr. Jürgen Borlak
Phone +49 511 5350-559
juergen.borlak@item.fraunhofer.de

Reference

Garaguso, I.; Halter, R.; Krzeminski, J.; Amin, S.; Borlak, J. (2010) Method for the rapid detection and molecular characterization of DNA alkylating agents by MALDI-TOF Mass Spectrometry. Analytical Chemistry 82 (20): 8573-8582

Preliminary Research

DETECTION OF LOCAL GENOTOXICITY IN THE LUNG

SUMMARY

Fraunhofer ITEM scientists have established an *ex vivo* approach that enables investigation of the local genotoxic potential of airborne substances in lung epithelial cells, and thus directly in the target cells of toxicant-induced tumorigenesis. In the future, this method could be used in inhalation studies to detect local genotoxic effects in the lung.

Background

For many airborne substances the lung epithelium is the portal of entry to the body. Genotoxic substances can directly damage the DNA of these cells and thus contribute to the formation of lung tumors. Such local effects, however, are not detected by systemic genotoxicity tests such as the *in vivo* micronucleus assay with bone marrow or peripheral blood. This is why in the present preliminary research project an *ex vivo* approach was established which enables investigation of genotoxicity in alveolar epithelial cells, i.e. type-II pneumocytes.

Aim

The aim of this research project was to establish the *ex vivo* Comet assay and the micronucleus assay in primary rat type-II pneumocytes. In a comparative experimental approach Comet assay and micronucleus assay were also performed in primary rat alveolar macrophages to determine whether these cells (which are easier to isolate than type-II pneumocytes) can be used as a surrogate model. The alkaline Comet assay is an indicator test which is also referred to as single-cell gel electrophoresis. It makes use of differences in the electrophoretic mobility of DNA fragments of different sizes to detect and quantify, on the single-cell level, direct DNA damage such as DNA strand breaks. In contrast, the micronucleus assay enables the analysis of manifest DNA damage, such as chromosomal damage or damage to the spindle apparatus. Micro-



nuclei consist of chromosome fragments or whole chromosomes that were not integrated into one of the daughter cell nuclei during cell division. These chromatin-containing bodies, enclosed in a nuclear membrane, can be found in the cytoplasm in addition to the normal cell nucleus.

Test substances

The model substances used were DQ12 quartz and urethane. Since 1997, respirable quartz has been categorized as a group-I carcinogen by the International Agency for Research on Cancer (IARC). There is a direct relationship between chronic inhalation of high concentrations of respirable quartz particles and a variety of lung diseases such as pulmonary fibrosis and lung cancer. Urethane belongs to the chemical group of carbamates. It is present, for example, in fermented foods and alcoholic beverages. Since the 1940ies, urethane has been known as a genotoxic carcinogen. It induces a large variety of different tumors in rodents, with one of its target organs being the lung. Before it can exert its genotoxic activity, urethane must be transformed by the organism to a genotoxic metabolite. A decisive player in this process is the enzyme cytochrome P450 2E1.

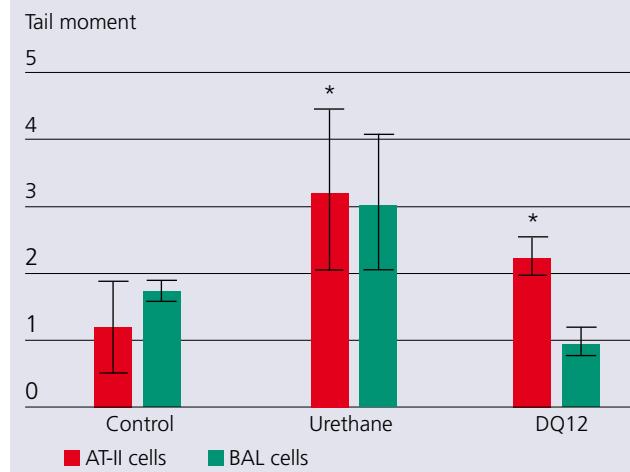
Method

Rats were treated either by single intratracheal instillation of 0.2 mg/animal DQ12 quartz or by intraperitoneal injection of 300 mg/kg/day urethane on four consecutive days. Three days after the last treatment, bronchoalveolar lavage (BAL) was performed and type-II pneumocytes were subsequently isolated. The BAL fluid was analyzed for lactate dehydrogenase (LDH) activity, total protein content, and β -glucuronidase activity as markers of inflammation.

Fig. 1: Results of the alkaline Comet assay with freshly isolated type-II pneumocytes (AT-II cells) and alveolar macrophages from bronchoalveolar lavage fluid (BAL cells).

The rats had previously been treated intraperitoneally with 300 mg/kg/day urethane or by intratracheal instillation of a single dose of 0.2 mg DQ12 quartz. Control animals had been treated intraperitoneally with an identical volume of 0.9% NaCl. Three days after the last treatment, type-II pneumocytes and alveolar macrophages were collected. The figure shows mean values and standard deviations of 8 (controls and urethane) or 6 (DQ12 quartz) rats. An increase in tail moment in the Comet assay is synonymous with induction of DNA damage.

*Significant difference from the control group:
 $p \leq 0.05$, Student's *t*-test for unpaired values.



DNA strand breaks/alkali-labile lesions, possibly caused by the test substances, were investigated by using the alkaline Comet assay in type-II pneumocytes and alveolar macrophages. Chromosomal and genome mutations were detected by the micronucleus assay in type-II pneumocytes, alveolar macrophages, and in bone marrow erythrocytes.

**DRUG RESEARCH AND DEVELOPMENT,
MEDICAL BIOTECHNOLOGY AND
MOLECULAR MEDICINE**

Results

With the alkaline Comet assay a significant increase in DNA damage in type-II pneumocytes could be detected in the DQ12 and the urethane groups. Increased micronucleus frequency could be demonstrated only in bone marrow erythrocytes of the DQ12-treated animals. The inflammation markers LDH, total protein, and β -glucuronidase were significantly increased in the BAL fluid of DQ12-treated rats, while there was no indication of an inflammatory response in the lungs of the animals that had been treated with urethane.

Conclusion

In the present study, it was possible for the first time to demonstrate a direct DNA-damaging effect of urethane in primary rat type-II pneumocytes and thus local genotoxicity of this substance in the lung. This effect was obviously not based on an inflammatory response.

Outlook

In the future, the *ex vivo* Comet assay could also be used in inhalation studies to investigate local genotoxic effects in the lung and in type-II pneumocytes in particular.

Reference

Bachelor's thesis by Julia Reinke (2010)
*Ex-vivo-Comet Assay und Mikrokerntest an primären
Typ II-Zellen der Ratte.*



CONTACTS

Dr. Tanja Hansen
Phone +49 511 5350-226
tanja.hansen@item.fraunhofer.de



Dr. Christina Ziemann
Phone +49 511 5350-203
christina.ziemann@item.fraunhofer.de

Business Unit 1

PROJECT OVERVIEW

Immunotoxicological evaluation of metals	Testing of plant-based drugs in models of inflammation	Development of a generic GMP-grade manufacturing platform for recombinant antibodies based on mammalian and microbial cell cultures
Efficacy of biopharmaceutical drugs in primates	<i>In vivo</i> and <i>ex vivo</i> imaging of the immune response by 2-photon microscopy	
Immunotoxin-directed depletion of cell populations in different species (primates, mouse)	Safety pharmacology of the lung	Development of a generic GMP-grade manufacturing platform for nucleic acids/DNA
Evaluation of the toxicity of airborne pollutants in precision-cut lung slices	Testing of bronchodilator drugs	Establishment of an aseptic processing line for GMP manufacturing of infusion bags
Drug testing in mouse and rat asthma models including lung function measurements	Pulmonary effects of nanoparticles	Establishment of GMPs for supplying the Department of Clinical Airway Research with provocation substances for clinical trials
Drug testing in infection models	Development of GMP-grade manufacturing processes for bacteriophages	
Drug testing in mouse and rat models of LPS-induced inflammation	Characterization of bacteriophages as active pharmaceutical ingredients	

BUSINESS UNIT 2

CLINICAL AIRWAY RESEARCH



Project Reports

Analysis of exhaled particles to diagnose and monitor the course of respiratory diseases

Surfactant protein D as a biomarker

Preliminary Research

EU project EvA: Emphysema versus Airway disease

SMart Nose®: exhaled breath analysis using an electronic nose

Cellular therapy for bronchial asthma

Clinical studies to test the efficacy of new pharmaceuticals, to develop novel biomarkers, and to assess the potential hazards of pollutants in the air are conducted in the business unit Clinical Airway Research. In this field, the Fraunhofer ITEM closely cooperates with the Hannover Medical School as well as with industry and different research institutions.

Clinical drug trials are one focus of work in this business unit. According to the guidelines of "Good Clinical Practice", clinical pharmacological studies with volunteers and patients to evaluate the efficacy and safety of new anti-obstructive and anti-allergic drugs are carried out, with the main emphasis being placed on the design and realization of early clinical trials (phases I and II). The efficacy of new anti-allergic drugs in patients with hay fever can be tested under controlled allergen challenge conditions in the Fraunhofer Environmental Challenge Chamber (Fraunhofer ECC), which is operated in cooperation with the Department of Aerosol Technology. In the future, it will also be possible to conduct tests with other allergens – such as house dust mites, cat dander, or birch pollen – in the

Fraunhofer ECC. Another focus of the clinical research activities is on bronchoscopic examinations after inhalation or instillation of allergens, endotoxin, or pharmaceuticals. Only few institutions worldwide have at their disposal comparable expertise and technical facilities.

Under a special research program (SFB 587: "Immune Reactions of the Lung in Infection and Allergy") sponsored by the German Research Foundation (DFG) clinical research projects are conducted in this business unit, investigating the allergic inflammation in the lung and its interaction with the endogenous surfactant system on the one hand, and with exogenous environmental dusts on the other hand.

Cutting-edge technology and high professional expertise are the outstanding features of this business unit. Its current core competencies include research methods of respiratory medicine and allergology, clinical drug trials for the indications allergy, asthma, and COPD, as well as aerosol process technology and aerosol analytics.

CONTACTS



Prof. Dr. med. Norbert Krug
Phone +49 511 5350-602
norbert.krug@item.fraunhofer.de



Prof. Dr. med. Jens Hohlfeld
Phone +49 511 5350-604
jens.hohlfeld@item.fraunhofer.de

Project Report

ANALYSIS OF EXHALED PARTICLES TO DIAGNOSE AND MONITOR THE COURSE OF RESPIRATORY DISEASES

SUMMARY

Exhaled breath analysis plays an important role in the diagnosis of respiratory diseases. What has not been sufficiently validated so far is the measurement of particles that are exhaled as non-volatile microdroplets. In a cross-disciplinary project at the Fraunhofer ITEM, scientists are now investigating the mechanisms of aerosol generation in the lung and different patterns in exhaled breath. This includes also the determination of particle emission and particle size distribution for different pathological conditions. The aim is to enable the use of exhaled particle analysis for diagnosing and monitoring the course of respiratory diseases.

Introduction

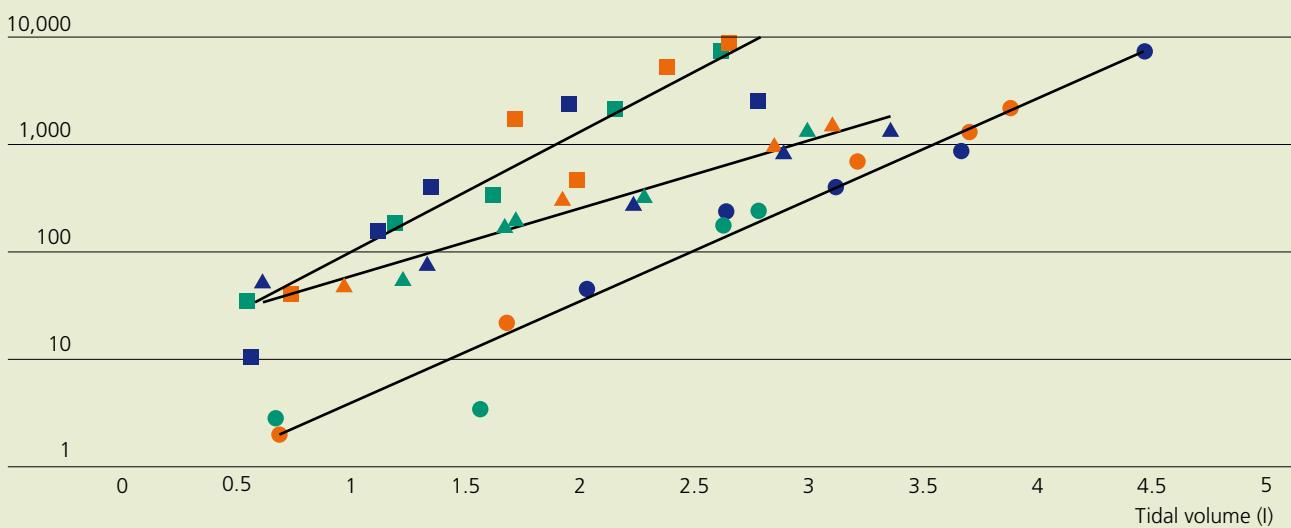
Non-invasive diagnosis of airway inflammation plays a pivotal role in airway research. While the measurement of gaseous messenger substances such as nitric oxide (NO) has been technically established in the diagnosis and disease monitoring of bronchial asthma and has become a part of clinical routine, the determination of non-volatile molecules in exhaled breath is technically challenging and therefore has not been sufficiently validated so far. These non-volatile molecules are exhaled from the lung via microdroplets of the lung-lining fluid. Until now, they have been collected in a cold-trap together with the water vapor that forms part of the exhaled air (breath condensate). This technique, however, results in a considerable dilution of the non-volatile biomarkers which are present only at trace levels, so that efforts to standardize the sampling method and validate the analytical procedures so far have failed. For a future standardization of the analysis of non-volatile biomarkers it is essential to better understand the generation of aerosols in human lung and to elucidate the parameters that control the amount of aerosol generated (breathing pattern, lung function).



Experimental setup for the characterization of endogenously generated exhaled aerosols

Fig. 1: Exhaled particles per breath plotted against the tidal volume for three healthy subjects. The different symbols (circle, triangle, square) indicate the different subjects, while the different colors (red, green, blue) distinguish the three different measurements performed for each subject, showing good intraindividual reproducibility.

Exhaled particles per breath



Research project

As part of a cross-disciplinary research project funded by the German Research Foundation and the German Aerospace Center, researchers at the Fraunhofer ITEM are systematically investigating aerosol generation and transportation in human lungs, aiming to develop a valid method for analyzing non-volatile biomarkers. To this end, theoretical calculations of the particle size during rupture of a surfactant film were performed and then compared with the particle sizes measured in humans. The computed and the measured particle size dis-

tributions displayed good agreement, both showing particle diameters primarily in the submicron size range. Furthermore, the number flux and the particle size distribution in exhaled breath as a function of the breathing pattern were studied in detail in 16 volunteers. While the volunteers followed prescribed breathing patterns, particle numbers were measured with a condensation nuclei counter and the size distribution with a laser spectrometer. In addition, the intra- and inter-subject variability of particle emission was analyzed. With increasing breathing depth an exponential increase in the particle number was observed. While the tidal volume was

a factor that dominantly influenced the particle number flux, changes in the flow rate had no effect. Reproducibility of particle emission within subjects was high, but there was large variation between the investigated subjects. Furthermore, a correlation between particle numbers and diaphragm position was detected. The observed exponential dependence of the particle number flux on breathing depth and diaphragm position suggests a reopening of occluded small airways.

Outlook

The data collected in this project are of direct relevance for the further development of particle-based diagnostic methods using human exhaled breath, as the substantial variations between different subjects indicate the necessity for further standardization based on the number flux. Knowing a subject's individual particle emission, a correction factor can thus be introduced. Besides improved standardization, measurement of the particle number in patients with lung diseases who have an increased risk of peripheral airway occlusion (e.g. bronchiolitis) may possibly prove to be of diagnostic value. In the ongoing project, particle emission and particle size distribution during different pathological conditions and changes in the airways (experimental obstruction) are being explored. The long-term aim is to establish a particle-based analytical method for diagnosing and disease monitoring of respiratory diseases.

References

- Haslbeck, K.; Schwarz, K.; Hohlfeld, J. M.; Seume, J. R.; Koch, W. (2010) Submicron droplet formation in the human lung. In: Journal of Aerosol Science 41: 429-38
- Schwarz, K.; Biller, H.; Windt, H.; Koch, W.; Hohlfeld, J. M. (2010) Characterization of exhaled particles from the healthy human lung – a systematic analysis in relation to pulmonary function variables. In: Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery 23 (6): 371-9

CONTACTS



Prof. Dr. med. Jens Hohlfeld
Phone +49 511 5350-604
jens.hohlfeld@item.fraunhofer.de



Prof. Dr. Wolfgang Koch
Phone +49 511 5350-117
wolfgang.koch@item.fraunhofer.de

Project Report

SURFACTANT PROTEIN D AS A BIOMARKER

SUMMARY

The pulmonary surfactant system plays an important role in a variety of lung diseases. Researchers in the Fraunhofer ITEM Department of Clinical Airway Research are investigating the relationship between surfactant and diseases such as bronchial asthma. In a clinical study in 15 asthma patients they have been able to observe correlations between individual components of the surfactant system and the severity of the inflammation. Among the results was the detection of a biomarker which indicates severe bronchial asthma.

Introduction

The pulmonary surfactant system covers the inner surface of the lung, and its surface activity provides stabilization. A lack of surfactant is the cause of infant respiratory distress syndrome in immature neonates, and surfactant substitution therapy has substantially contributed to a striking reduction of the mortality rate of this disorder, so that even preterm babies with a birth weight below 500 g today have a chance to survive. Besides this immaturity of the lung with a quantitative lack of surfactant, there is a variety of lung diseases beyond childhood age for which alterations in the surfactant system have been described. These include acute respiratory distress syndrome in adults and lung fibrosis. A possible role of the surfactant system in obstructive airway diseases such as bronchial asthma and chronic obstructive pulmonary disease has been a topic of research at the Fraunhofer ITEM for many years.

Background

Surfactant consists mainly of phospholipids, whose polar structure affects the molecular organization at the air-liquid interface, thereby reducing its surface tension. The biophysical function of surfactant is supported by the hydrophobic surfactant proteins SP-B and SP-C, which influence the sorting and orientation of the phospholipids. Besides these hydrophobic surfactant proteins there are also the hydrophilic surfactant proteins SP-A and SP-D. These proteins have complex structures, consisting of several sub-units which arrange themselves

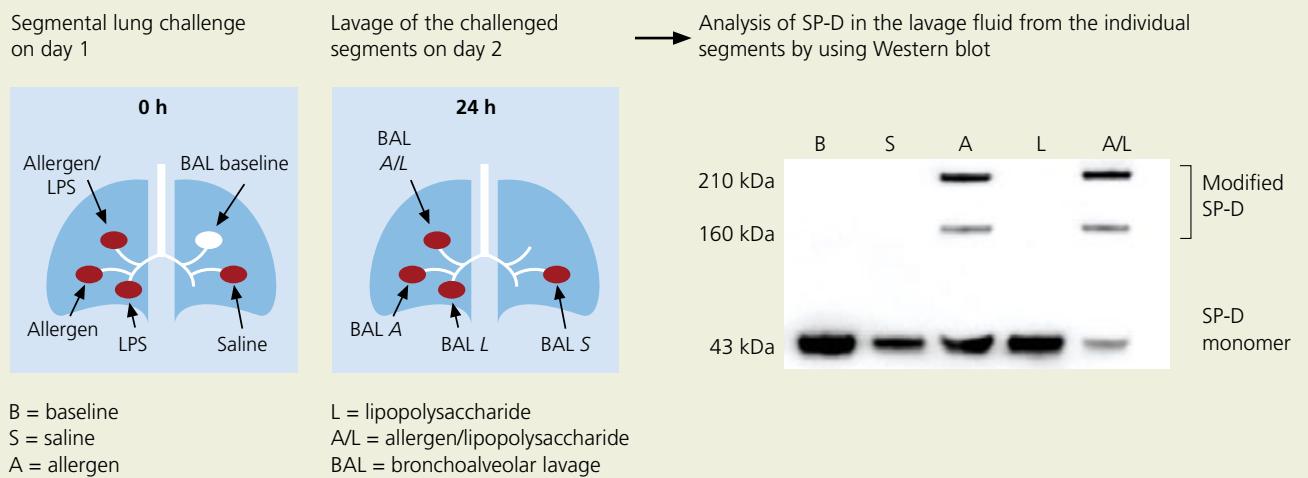
each in a characteristic manner and via their sugar-binding domains interact with pathogens such as viruses, bacteria, and fungi. SP-A and SP-D are thus important players of the non-specific pulmonary immune response. SP-D furthermore binds to allergens and increases the ingestion of these proteins by macrophages. In an animal model of allergic asthma SP-D leads to a reduction of airway inflammation, improvement of bronchial hypersensitivity, and inhibition of obstruction. Both in animals and in patients with asthma, pulmonary SP-D levels are increased during allergic airway inflammation, and this can be looked upon as a counterregulation aimed at containing the allergic inflammation. As the allergic inflammation is also associated with oxidative and nitrosative stress, the question arose as to whether SP-D thereby was posttranslationally

modified and what functional consequences this had for the allergic inflammation.

Clinical study

In a clinical study in 15 patients with bronchial asthma, segmental challenge was performed in several lung segments during bronchoscopy to induce local inflammation, which was triggered either by allergen only, by endotoxin only, or by a combination of allergen and endotoxin. This method allowed on the one hand different severities of inflammation and on the other hand different types of inflammation to be induced and studied. In the bronchoalveolar lavage (BAL) fluid collected, quantitative and qualitative SP-D alterations were then investigated.

Fig. 1: The SP-D analysis showed that after allergen challenge modified SP-D was present, which thus may be considered a biomarker of severe bronchial asthma.



Results

The researchers found the multimeric structure of SP-D to be altered after allergen-induced inflammation, but not after endotoxin-induced inflammation. This observation was made only in half of the patients and was dependent on the severity of the local inflammation. Since these alterations in the structure of SP-D correlated with the severity of the inflammation and with different messenger substances, the modified SP-D can be considered a biomarker of severe bronchial asthma. In addition, the alteration in the SP-D structure caused a loss of function of the protein. We conclude that although SP-D levels are in fact increased during the allergic inflammation, the anti-inflammatory effect is lost because of the loss of function resulting from the structural alteration of SP-D. This finding provides a rationale to search for ways to prevent allergen-induced posttranslational modification of SP-D.

Reference

Atochina-Vasserman, E. N.; Winkler, C.; Abramova, H.; Schaumann, F.; Krug, N.; Gow, A. J.; Beers, M. F.; Hohlfeld, J. M. (2010) Segmental allergen challenge alters multimeric structure and function of Surfactant Protein D in humans. In: American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, Dec 3 (Epub)



CONTACT

Prof. Dr. med. Jens Hohlfeld
Phone +49 511 5350-604
jens.hohlfeld@item.fraunhofer.de

Preliminary Research

EU PROJECT EVA: EMPHYSEMA VERSUS AIRWAY DISEASE

Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is currently the fourth leading cause of death worldwide. During the next decades, a further increase both in the incidence and severity of the disease are to be expected, so that COPD will presumably rank third among the leading causes of death in 2020.

To the present day, many questions regarding the mechanism of disease have remained unanswered. COPD can present two different clinical manifestations: lung emphysema with a pathologically overinflated lung, and chronic bronchitis,

i.e. inflammation of the airways. In order to reach a much better understanding of this disease, its clinical manifestations, and corresponding treatments, a study under the name "EvA" (which stands for "Emphysema versus



Airway disease") was designed to define novel markers for the diagnosis of COPD.

The study is being funded by the European Union (EU) and conducted under the leadership of the Helmholtz Center Munich, Germany. Fourteen study centers in a total of nine European countries are participating, the centers in Germany being located in Hannover, Munich, Marburg, and Freiburg. All in all, 900 patients with COPD are to be studied. In addition, 150 healthy control subjects are planned to be included by December 2011.

The study at the Fraunhofer ITEM was initiated in August 2009 and is being performed in collaboration with the Department of Pneumology of the Hannover Medical School (MHH) under the direction of Prof. Dr. med. Tobias Welte. Ninety former smokers with COPD and 30 healthy ex-smokers are planned to be included. The study participants will undergo collection of blood samples, lung function measurements, exercise capacity testing, bronchoscopy, and CT scanning of the lung.

The aim of the EvA study is to localize specific markers (including genes in the genetic material or certain proteins in the lung) which may help to get insight into the different manifestations of the disease. This may eventually also lead to new therapeutic approaches.



CONTACTS

Dr. Cornelia Faulenbach
Phone +49 511 5350-612
cornelia.faulenbach@item-extern.fraunhofer.de



Dr. med. Mahyar Lavae-Mokhtari
(Hannover Medical School)
Phone +49 511 532-5564
lavae-mokhtari.mahyar@mh-hannover.de

Is the SMart Nose® suitable for use in clinical research? The ITEM scientist Olaf Holz (see photo) is testing a device for analyzing volatile substances in exhaled breath. This methodology may in the future be helpful in the diagnosis of airway diseases.



Preliminary Research

SMART NOSE®: EXHALED BREATH ANALYSIS USING AN ELECTRONIC NOSE

The Department of Clinical Airway Research develops methods aimed at characterizing airway inflammation with the greatest possible accuracy. The staff has substantial experience with all currently available methods, which are being used as validated endpoints both in clinical studies and basic research. The range goes from bronchoscopy via sputum analysis (i.e. investigation of mucus from the airways) to the analysis of nitric oxide in exhaled breath.

The methods of choice also include so-called electronic noses, which allow a multitude of volatile substances in exhaled breath to be measured simultaneously. In a recent study, scientists at the Fraunhofer ITEM tested the "SMart Nose®", which is based on mass spectrometry and so far has not been put to use in the field of medicine. The aim was to develop a suitable measurement methodology for clinical samples and then search for substance patterns that are typical of certain respiratory diseases.

To this end, 90 volunteers with different diseases of the airways were studied. Based on the obtained results, the scientists have already been able to statistically distinguish the substance patterns in the exhaled breath of smokers and non-smokers. Furthermore, with the defined algorithms it was also possible to correctly classify samples from patients with unknown smoker/non-smoker status. This is, however, not yet sufficient for using this technology in clinical research. The scientists intend to further optimize the methodology so as to enable the SMart Nose® in the future to also distinguish between different forms of airway inflammation.



CONTACT

Olaf Holz
Phone +49 511 5350-323
olaf.holz@item.fraunhofer.de

Preliminary Research

CELLULAR THERAPY FOR BRONCHIAL ASTHMA

SUMMARY

Over the past few years, basic research in immunology has been able to demonstrate that certain regulatory cells of the immune system – regulatory T cells (Tregs) and plasmacytoid dendritic cells (pDCs) – are capable of suppressing the allergic inflammatory response in the lung. This opens up new approaches for a cellular therapy of bronchial asthma. The challenge now is to evidence the potential of this cellular therapeutic treatment in clinical proof-of-concept studies and enable its exploitation for medical purposes. This will require close collaboration of academic, clinical, and industrial partners.

Concept

In a clinical proof-of-concept study at the Fraunhofer ITEM, researchers are planning to suppress the allergic inflammation in asthma patients by bronchial instillation of regulatory T cells (Tregs) or plasmacytoid dendritic cells (pDCs). They will make use of the established model of bronchoscopic segmental allergen challenge to induce a circumscribed allergic inflammation. By instilling the regulatory cells under investigation in addition to the allergens in a second area of the lung on the contralateral side, they will be able to investigate the anti-inflammatory effect of these immune cells within the same patient.

Isolation of cells under GMP conditions

The naturally produced immune cells will be isolated from the patient's blood by means of magnetic microbeads to which antibodies against specific surface structures of the target cells are attached. In order to guarantee GMP-compliant isolation of these cells and thus maximum purity for the clinical studies, the cell separation system Clinimacs® by Miltenyi Biotec will be used for this manufacturing process. Until now, this cell separation system is the only system that has been authorized for the isolation of cells for use in humans.

Cross-disciplinary competence cluster of Fraunhofer and MHH

In cooperation with the Department of Immunology, Allergology and Immunotoxicology at the Fraunhofer ITEM, the necessary pre-clinical data will be generated by using human *in vitro* allergy models and suitable animal models. The GMP-compliant

isolation of the target cells for the clinical study as required by the German Drug Act will be done in collaboration with the GMP development unit of the Integrated Research and Treatment Center Transplantation at the Hannover Medical School (MHH). The required professional collection of autologous leukocytes from the circulating blood as part of a cell separation process (leukapheresis) will be performed in collaboration with the MHH Center for Transfusion Medicine.

Current status

In vitro data are presently being generated in a pilot study in patients with allergic rhinitis, to enable submission of the clinical study for approval by the competent federal authority (Paul Ehrlich Institute). To allow the application for the manufacturing authorization for the regulatory immune cells to be filed with the local inspecting authorities, the GMP-compliant manufacturing process for the target cells is currently being validated in the GMP development unit at the MHH.

Sponsor

This project is being funded by the German Research Foundation (DFG) as a clinical sub-project (B9) of the Collaborative Research Center SFB 587 "Immune Reactions of the Lung in Infection and Allergy".



CONTACT

Dr. med. Frank Schaumann
Phone +49 511 5350-680
frank.schaumann@item.fraunhofer.de

Business Unit 2

PROJECT OVERVIEW

Safety and efficacy testing of an herbal product in patients with allergic rhinitis using the Fraunhofer Environmental Challenge Chamber

Efficacy of an anti-inflammatory compound in patients with asthma

Safety and efficacy testing of inhaled bronchodilators in patients with chronic obstructive pulmonary disease

Study on the impact of gravity on the number flux of exhaled endogenous aerosol particles generated in the lung

Safety and efficacy testing of a chemokine antagonist in patients with chronic obstructive pulmonary disease using endobronchial endotoxin challenge

Further development of a system for aerosolization and controlled administration of lung surfactant by inhalation

Characterization of exhaled particles in patients with asthma and chronic obstructive pulmonary disease

Development and validation of a universal method for challenging volunteers by inhalation with environmental and indoor allergens

Bronchoscopic sampling of airway inflammatory cells in patients with asthma

BUSINESS UNIT 3

OCCUPATIONAL AND ENVIRONMENTAL TOXICOLOGY AND CONSUMER PROTECTION



**OCCUPATIONAL AND
ENVIRONMENTAL TOXICOLOGY AND
CONSUMER PROTECTION**

Project Reports

**Nanomaterials being
put to the test**

**Derivation of threshold
values for inhalation
exposure**

**Local genotoxicity in
the lung**

The business unit Occupational and Environmental Toxicology and Consumer Protection is engaged in the investigation of chemicals, particles (including nanoparticles), and complex mixtures as they occur at workplaces, in the environment, and in consumer products. Profound knowledge in inhalation toxicology, aerosol process technology, chemical analysis, and toxicological pathology are the hallmarks distinguishing this business unit. The required studies are undertaken at the Fraunhofer ITEM in accordance with national and international guidelines and complying with the principles of Good Laboratory Practice (GLP).

To register a substance, numerous legal regulations controlling the introduction of new products and re-investigation of existing substances need to be taken into account. In many cases, new products and production technologies have to be subjected to evaluation, and indoor air pollution in general has to be assessed. In this context, the development of new techniques for measuring airborne pollu-

tants represents another focus of research. Physico-chemical and biological models help determine active substances and their persistence in building materials, furniture, and interior decoration, as well as in consumer products. In addition, the Fraunhofer ITEM develops mathematical simulation models for exposure assessment.

Immunology studies are conducted to investigate sensitizing and immunomodulating effects. Furthermore, potential irritant effects of chemicals and environmental pollutants on the airways are detected by means of different validated *in vitro* and, if need be, animal models. A wide scope of *in vitro* testing methods is available for assessing the genotoxic potential and for use as screening methods, allowing the number of necessary animal experiments to be reduced. In the Environmental Challenge Chambers of the institute's clinical unit, studies with volunteers are performed to investigate specific aspects of environmental and occupational toxicology.

CONTACTS



Prof. Dr. Clemens Dasenbrock
Phone +49 511 5350-408
clemens.dasenbrock@item.fraunhofer.de



Prof. Dr. Wolfgang Koch
Phone +49 511 5350-117
wolfgang.koch@item.fraunhofer.de

Project Report

NANOMATERIALS BEING PUT TO THE TEST

SUMMARY

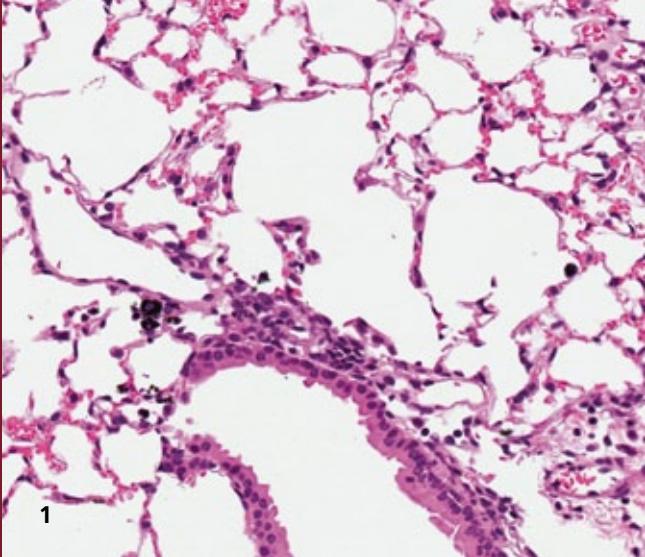
The German Federal Ministry of Education and Research (BMBF) has set up "NanoCare", a support program aimed at promoting the responsible handling of nanomaterials. Starting in 2010, this program includes also the funding of two research alliances in which the Fraunhofer ITEM is collaborating. The "CarbonBlack" alliance is concerned with the risks posed by carbon black, while in the "CarboTox" project scientists will investigate over the next few years the carcinogenic potential of fiber-like carbon nanotubes (CNTs). In both cases, researchers are striving to develop screening methods that will enable the manufacturing of nanomaterials which pose no health hazard.

Introduction

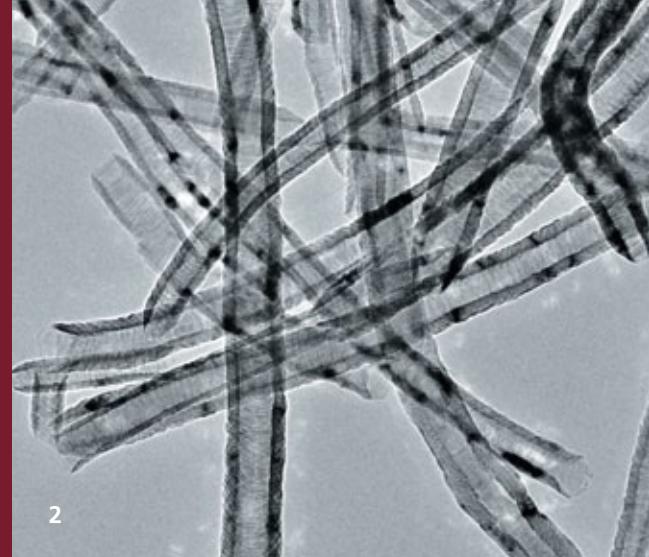
The increasing use of nanomaterials in a large variety of products requires that the risks posed by these extremely small materials be well known. Regardless of whether they are nanoparticles, nanotubes, nanofibers, or nanoplatelets – due to their extremely large surface/volume ratio these substances exhibit substantially higher reactivity. What actual risk these substances pose depends, among other things, on their exact structure and properties. At the Fraunhofer ITEM, scientists are testing above all their toxicity to the lungs and airways.

Carbon nanotubes

Their extraordinary properties – extreme tensile strength, high electrical conductivity, and low weight – make carbon nanotubes (CNTs) interesting for use in a large variety of products. Some studies, however, have provided indications that certain nanotubes with special characteristics could be carcinogenic when inhaled, similar to asbestos fibers. The German research alliance "CarboTox" now aims to develop a screening method that will enable early detection of a possibly carcinogenic potential. For these investigations, scientists at the Fraunhofer ITEM will use only those CNTs that are present as single fibers under simulated lung conditions, that is, in synthetic lung surfactant, and might thus act similarly to asbestos. Based on today's knowledge, shorter and tangled nanotubes do not seem to have any toxic effects. To allow for the influence of the diameter, length, and functional groups to be explored,



1



2

custom-made CNTs will be produced by a project partner. The experiments will be performed in animal models – *in vivo* – and in the laboratory in different *in vitro* tests in cell cultures.

Carbon nanoparticles

Carbon black is an industrial chemical that is manufactured in large quantities worldwide. It consists of smallest nanoparticles and is used, for example, in the manufacturing of automobile tires and other plastic materials. A health risk from carbon black nanoparticles (CBNPs) can, as yet, not be ruled out, and the World Health Organization has classified these particles as possibly carcinogenic. The German Federal Ministry of Education and Research is funding the research alliance "Carbon-Black", aimed at finding out to what extent the hazard potential depends on the varying properties of different types of carbon black. The Fraunhofer ITEM in Hannover is testing above all the toxicological effects in human lung cell lines and lung slices and will verify them in animal models. The aim of the alliance is to develop over the next three years a multi-step test system that will allow the toxic effects of different CBNPs on human lungs and airways to be quantified.

CONTACTS



Dr. Bernd Bellmann
CarboTox
Phone +49 511 5350-452
bernd.bellmann@item.fraunhofer.de



Dr. Tanja Hansen
CarbonBlack
Phone +49 511 5350-226
tanja.hansen@item.fraunhofer.de

Project Report

DERIVATION OF THRESHOLD VALUES FOR INHALATION EXPOSURE

SUMMARY

Under the EU project OSIRIS, staff members of the Department of Chemical Risk Assessment at the Fraunhofer ITEM are collaborating with other European partners to develop an integrated testing strategy (ITS) for the endpoint chronic toxicity of chemicals. The aim is to achieve risk assessment of a chemical by combining and weighting all the *in vitro* and *in vivo* data already available on this substance, so as to further reduce the number of animal experiments. A constituent of this integrated testing strategy is the TTC concept (Threshold of Toxicological Concern). If human exposure does not exceed the TTC values, no risk to human health is expected. As part of the OSIRIS project, TTC values for inhalation exposure to non-genotoxic substances were derived by using the FhG database RepDose (www.Fraunhofer-RepDose.de).

Introduction

TTC values are used when there are no data on animal experiments available for a substance or testing is not possible for technical reasons. They have already been used successfully to regulate additives in food and cosmetics. Based on the substances' structural properties, the TTC concept distinguishes by means of the Cramer decision tree three substance classes and their corresponding thresholds. Cramer classes 1 and 2 include substances whose structure suggests low/moderate toxicity, while Cramer class 3 contains all substances with predominantly reactive structural groups which are expected to cause toxic effects. The Cramer decision tree is based on theoretical considerations and was developed already in 1978 to assess systemic toxicity. In 1996, Munro made use of the Cramer classes to derive TTC values for oral exposures. To this end, he developed a database commonly referred to as Munro database, which contains the NOEL and LOEL values (No Observed Effect Level and Lowest Observed Effect Level) of over 600 substances from mostly subchronic and chronic studies in rats, mice, hamsters, and rabbits. The threshold values he derived were 1800 µg/person/day for Cramer class 1, 540 µg/person/day for Cramer class 2, and 90 µg/person/day for Cramer class 3.

Aim of the project

Inhalation is an important route of exposure to chemicals at the workplace. The aim of this project is to evaluate whether and to what extent the TTC concept is suitable for deriving threshold values for substances taken up by inhalation.

Derivation of thresholds

In the RepDose database, 203 industrial chemicals that have already been tested in repeated-dose inhalation studies could be identified. Threshold values were derived by using an analogous method to that developed by Munro, and these were 4 µg/person/day for Cramer class 1 and 71 µg/person/day for Cramer class 3. No value could be derived for Cramer class 2, as this class included only a very small number of substances (4%). The derived thresholds for inhalation exposure are thus significantly lower than the TTC values for oral exposure. It was possible to demonstrate that one reason for the observed difference between inhalation and oral thresholds is the sensitivity of the respiratory tract to local effects in inhalation studies. Local effects in the respiratory tract are frequently observed and even at low exposure concentrations and thus determine the NOEC (No Observed Effect Concentration).

Table 1: Inhalation TTCs derived from the data in the RepDose database

Dataset	Route	Number of compounds	TTC for Cramer class (µg/person/day)*	
			1	3
RepDose	Inhalation	All compounds	203	71
RepDose	Inhalation	Non-genotoxic	136	180

* exposure: 24 hours/day on 7 days/week

In a next step, all substances with structural alerts for genotoxicity were excluded, seen that genotoxic substances are regulated by a specific TTC value of 0.15 µg/person/day. This resulted in the following TTC values for non-genotoxic substances: 180 µg/person/day for Cramer class 1 and 4 µg/person/day for Cramer class 3. An overview of the threshold values derived in this project is given in Table 1.

Outlook

Under the European regulation REACH, risk assessment of thousands of chemicals will be required within the next few years. Together with the oral TTC values that have already been described in the literature, the inhalation thresholds derived in this project represent a useful and transparent method that allows animal testing to be avoided, if the exposure is below the substance-specific threshold value. By taking into account route-specific differences, it will be possible to further improve the TTC concept and thus also the derived thresholds.

Reference

Escher, S. E.; Tluczkiewicz, I.; Batke, M.; Bitsch, A.; Melber, C.; Kroese, E. D.; Buist, H. E.; Mangelsdorf, I. (2010) Evaluation of inhalation TTC values with the database RepDose. In: *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 58: 259-274



CONTACT

Dr. Sylvia Escher
Phone +49 511 5350-330
sylvia.escher@item.fraunhofer.de

Project Report

LOCAL GENOTOXICITY IN THE LUNG

SUMMARY

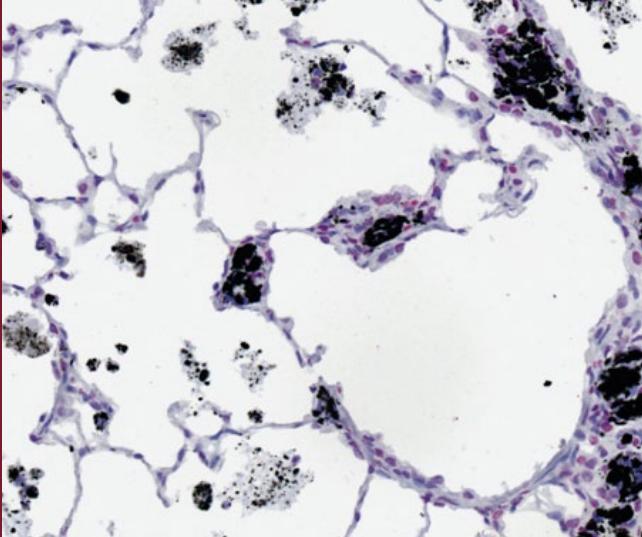
How do fine and ultrafine particles, when inhaled, affect the genetic material of lung epithelial cells? This mechanistic question regarding the local genotoxicity of particles was studied by scientists at the Fraunhofer ITEM by using lung tissue samples from a previously completed animal study and an immunohistochemical method to evaluate the expression of genotoxicity markers. The results were compared with data on other endpoints from the original study and with literature data.

Introduction

To investigate the local genotoxicity of fine and ultrafine particles in lung epithelial cells, Fraunhofer ITEM scientists on the one hand analyzed the recent literature and on the other hand used an experimental immunohistochemical approach. This approach made it possible to retrospectively study local genotoxicity in existing lung tissue samples from (nano)particle-exposed animals from a previously completed Fraunhofer ITEM study. To demonstrate genotoxicity, different genotoxicity markers were selected. Corresponding commercially available primary antibodies for formalin-fixed, paraffin-embedded tissue were first validated and the immunohistochemical detection methods were then adapted to the requirements of the existing sample material.

Lung tissue samples

The paraffin-embedded lung tissue samples were derived from rats that had been exposed to quartz, amorphous silica, or carbon black by repeated intratracheal instillation over a period of three months (subchronic). In addition, the results of a carcinogenicity study involving intratracheal instillation of the same types of particles and data reflecting the extent of tissue inflammation after three months (bronchoalveolar lavage and histology) were available, enabling comparative validation of the genotoxicity markers and evaluation of their expression.



Immunohistochemical detection of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OH-dG) as a premutagenic DNA base modification and a marker for oxidative DNA damage in lung tissue from a rat exposed to carbon black (Printex® 90). Epithelial cells with a positively (red) stained nucleus were quantified.

Genotoxicity markers

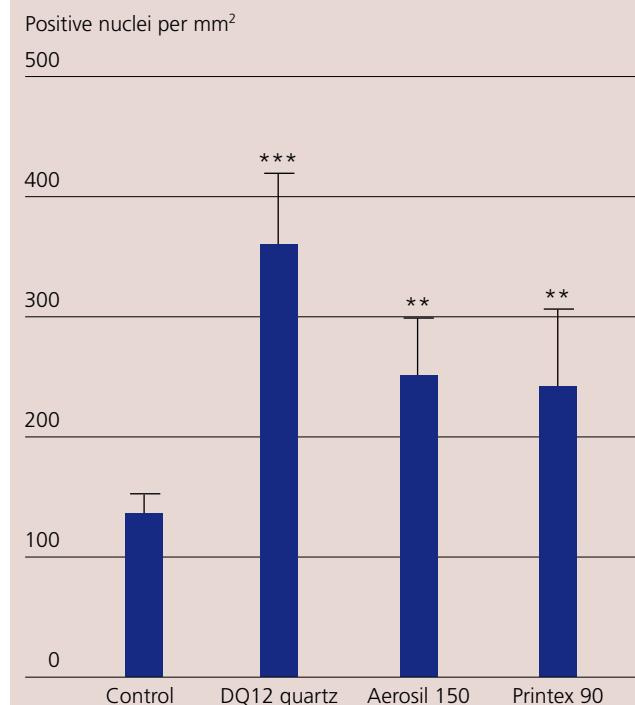
Local genotoxicity was evaluated by using immunohistochemical detection and subsequent quantification by image analysis of four different markers for DNA damage. The following genotoxicity markers were selected: poly(ADP-ribose) (PAR), phosphorylated H2AX (γ -H2AX), 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OH-dG), and 8-oxoguanine DNA glycosylase (OGG1). PAR indicates early cellular reaction to DNA damage, γ -H2AX primarily shows DNA double-strand breaks (DSB), 8-OH-dG is a sign of a frequently occurring premutagenic oxidative DNA base modification, and OGG1 reflects the repair capacity for oxidative DNA damage.

Results

The recent investigations demonstrated that quantitative determination of genotoxicity markers in epithelial lung cells by image analysis is possible by using immunohistochemical labeling with specific antibodies of paraffin-embedded lung tissue sections. In the investigated overload situation, the samples collected after three months displayed different degrees of local genotoxicity, which allowed certain conclusions on possible genotoxic mechanisms of action of particles to be drawn. The most sensitive marker turned out to be γ -H2AX, the marker that indicates DSB. Expression of γ -H2AX correlated best with the data on inflammatory activity in the lungs as derived from the original study and also with the data from the carcinogenicity study. In addition, γ -H2AX was able to differentiate between the three different particle treatments. All in all, the results were in agreement with genotoxicity data for these particles as reported in the literature.

Fig. 1: Quantitative analysis of 8-OH-dG-positive cell nuclei in lung tissue sections from particle-exposed rats.

The marker 8-OH-dG, representing a premutagenic oxidative DNA base modification, was evaluated immunohistochemically in lung epithelial cells. An automated transmitted-light microscope with digital SIS camera and the image analysis system "SIS Analysis Five" were used for quantification. The analysis included 20 peri-bronchiolar fields per lung section. The animals had been exposed to carbon black (Printex® 90), crystalline (DQ12), or amorphous SiO₂ (Aerosil® 150) for 3 months. Data represent mean values \pm standard deviations of 6 animals per treatment group. The number of positive nuclei per mm² of tissue area is indicated. Significantly different from the control group: ** p \leq 0.01, *** p \leq 0.001, Student's t-test for unpaired values.



**OCCUPATIONAL AND
ENVIRONMENTAL TOXICOLOGY AND
CONSUMER PROTECTION**

For DQ12 quartz all of the investigated markers gave statistically significant positive results, suggesting profound genotoxic stress, occurrence of DSB, and oxidative DNA damage with subsequent repair activity. In spite of higher doses, the genotoxic response to Printex® 90 (carbon black) exposure was less pronounced, but nevertheless a significant increase in DSB- and 8-OH-dG-positive nuclei and in OGG1-positive cytoplasm was detected. With Aerosil® 150 (amorphous silica), only 8-OH-dG levels and the OGG1-dependent repair activity (OGG1 expression in the cytoplasm) displayed a statistically significant increase as compared to control animals.

By means of this study, the Fraunhofer ITEM scientists were able to establish a method of quantifying – even retrospectively – in paraffin-embedded tissue sections the local genotoxicity of particles in the lung by means of different genotoxicity markers. This approach could thus be of prognostic value in the context of particle-induced tumorous lesions and, if appropriately customized, could theoretically enable detection of local genotoxicity *in vivo* in different target organs. This would offer possibilities for genotoxicity endpoints to be integrated into subchronic toxicity studies and also for mechanistic investigations, such as the differentiation between genotoxic and non-genotoxic carcinogens. This research project was funded by the German Federal Institute for Occupational Safety and Health (BAuA).



CONTACTS

Priv.-Doz. Dr. Susanne Rittinghausen
Phone +49 511 5350-310
susanne.rittinghausen@item.fraunhofer.de



Dr. Christina Ziemann
Phone +49 511 5350-203
christina.ziemann@item.fraunhofer.de

Business Unit 3

PROJECT OVERVIEW

Aerosol Technology			
Validation of a computer-based model for estimating inhalation and dermal exposures during spraying processes	Experimental investigations on safety aspects during transportation and storage of radioactive materials	Investigations to determine the inhalation and dermal exposures after spray application of biocidal products at workplaces	Development of NMR/MS data modeling for the characterization of condition-dependent metabolite patterns
Development of a continuous procedure for the generation of calibration aerosols in the ultrafine particle size range	Studies on protective measures for rescue staff during radiological emergencies	Development and validation of analytical methods for biomonitoring of selected metabolites	Profiling of trace-level and degradation-related impurities in pharmaceuticals by LC-NMR and LC-MS investigations
Reduction of the hazard from airborne microorganisms: fast, automated, and specific detection of viruses and other pathogens using immunobiological methods	Supply of aerosol technological know-how and equipment for setting up and operating an aerosol chamber for microorganisms	Determination of 3-MCPD in body fluids and organs	Collateral analytical investigations in <i>in vitro</i> exposure studies with gaseous substances
Bio- and Environmental Analytics			
Characterization of the exposure resulting from the use of different household spray products	Chemical characterization of bitumen condensates	Determination of concentrations of pharmaceuticals in exposure atmospheres and formulations	Measurement of specific inorganic tracers for validation of dispersion models
Study on particle deposition in the respiratory tract of minipigs	Characterization of the composition of biocidal products (substance mixtures)	Development of methods for non-target analysis of complex mixtures	Determination of toxic elements in consumer products
	Studies on formaldehyde release from formaldehyde depot substances		

**OCCUPATIONAL AND
ENVIRONMENTAL TOXICOLOGY AND
CONSUMER PROTECTION**

Cytostatic drug monitoring: workplace surveillance during centralized cytostatic drug preparation in hospitals and pharmacies	Screening investigations in human cell lines from different locations in the respiratory tract to gain insight into the toxicity of carbon black nanoparticles	Genetic Toxicology Comet assay-based evaluation of the genotoxic potential of quartz-containing ceramic fibers	In Vitro Toxicology Development of a biological detector for inhalable test substances
Clinical Chemistry and Toxicokinetics Hematological and clinico-chemical analyses within toxicological studies	Databases and Information systems RITA – Registry of Industrial Toxicology Animal-data	Mechanistic investigations concerning the genotoxicity of nitrostyrene derivatives, with special focus on topoisomerase II activity	<i>In situ</i> analysis of the cellular effects of airborne pollutants and active substances <i>in vitro</i>
Investigations on the dermal uptake of zinc oxide nanoparticles	CEPA – Cell Proliferation and Apoptosis	Studies in primary gingival fibroblasts on the genotoxic potential of bisphenol A as a substance potentially released from dental filling materials	Extended prevalidation of the Air/Liquid Interface technology as a testing method for inhalable substances (gases) in a round-robin study
Investigations on inflammatory parameters and oxidative stress in rat bronchoalveolar lavage fluid	goRENI INHAND – International Harmonization of Nomenclature and Diagnostic criteria	Studies on the <i>in vitro</i> and <i>in vivo</i> genotoxicity of innovative pharmaceuticals	<i>In vitro</i> exposure of cell lines from different locations in the respiratory tract to nanopowders to characterize particle uptake and distribution
Measurement of viability parameters (LDH, urea) in cell culture supernatants	General and Reproductive Toxicology Impact of low-frequency electromagnetic fields on the developing hematopoietic system, the immune system, and the CNS <i>in vivo</i>	Participation in an international round-robin study on the Ames-fluctuation assay	Generation of complex cell culturing models to be used in screening processes for efficacy testing of substances

Inhalation Toxicology			
Size separation of fibers into respirable fractions	Development of screening methods for the detection of a possibly carcinogenic potential of carbon nanotubes	Genotoxic mechanisms of action of fine and ultrafine dusts in the lung	Determination of cell proliferation in the respiratory tract after inhalation of different types of fibers
Studies on the <i>in vivo</i> solubility of glass fiber dusts	Toxicokinetics study in rats after inhalation exposure to carbon nanotubes	Histological evaluation of the respiratory tract after inhalation or intratracheal instillation of different types of fibers and particles	Cellular and subcellular effects in rat lung epithelial cells after inhalation of fine and nanoscale titanium dioxide particles
Investigations to assess lung toxicity of toner powders or toner additives	Pathology	Histological, immunohistochemical, and morphometric evaluation of the effects of different types of fibers in peritoneal cells	
Study into the toxicokinetics of inhaled, poorly soluble nanoscale particles in rats	Electron microscopic analysis of nanoparticle behavior after cellular uptake in different cell culture systems		
Dispersion and retention of dusts containing ultrafine primary particles in the lung	Demonstration of inhaled or instilled nanoparticles in the respiratory tract by electron microscopy	Pathogenetic and immunobiological investigations on the carcinogenicity of particles	
Comparative investigation of three nano-titanium dioxides with different surface characteristics in a 28-day inhalation study	Analysis of the translocation of fine and nanoscale titanium dioxide particles from the nose to the brain by electron microscopy	Pathology database RITA (Registry of Industrial Toxicology Animal-data) in collaboration with the Working Group on Databases and Information Systems	

BUSINESS UNIT 4

TESTING AND REGISTRATION OF CHEMICALS, BIOCIDES AND PESTICIDES



TESTING AND REGISTRATION OF CHEMICALS, BIOCIDES AND PESTICIDES

Project Reports

**REACH: registration
in practice**

**Authorization of biocidal
products: applicants are
facing new challenges**

The business unit Testing and Registration of Chemicals, Biocides and Pesticides pools the institute's long-standing experience and comprehensive expertise in risk assessment, covering the fields of exposure assessments, behavior in the environment, toxicology, and ecotoxicology.

Numerous substances for which data are already available require additional evaluations to allow for risk assessment. In addition, the European chemicals policy REACH, which came into force in 2007, requires re-investigation of a large number of active substances that are already on the market. The scientists working in this business unit view and evaluate the existing data and will recommend additional tests for a substance whenever this seems necessary. To close existing data gaps, studies addressing the following endpoints are performed at the Fraunhofer ITEM: toxicokinetics, sensitization, immunotoxicity, subchronic and chronic toxicity, reproductive toxicity, teratogenicity, carcinogenicity, and mutagenicity. Investigations into the mechanisms of action of chemicals can also be conducted.

According to requirements, the Fraunhofer ITEM closely cooperates with different Fraunhofer institutes and other contract research institutions. All data necessary for risk assessments as required by regulations (including physico-chemical properties and ecotoxicity) can thus be provided by a single source, and the overall assessment and registration dossiers can be prepared. All expert reports are created in accordance with high standards.

Legal requirements, in particular the criteria for risk assessments, are subject to constant changes. Through cooperation with national and international committees and authorities as well as participation in round-robin studies, the Fraunhofer ITEM takes part in the development of guidelines and can thus react immediately to changes – a benefit particularly for our clients. It is foreseeable that the demand for risk assessments and additional toxicological studies of chemicals will continue to increase. The assessment of substances falling under REACH is one of the challenges of the years to come. The expertise in this business unit, therefore, will continue to be further expanded.

CONTACTS



Dr. Inge Mangelsdorf
Phone +49 511 5350-303
inge.mangelsdorf@item.fraunhofer.de



Dr. Jochen Buschmann
Phone +49 511 5350-462
jochen.buschmann@item.fraunhofer.de

Project Report

REACH: REGISTRATION IN PRACTICE

SUMMARY

As part of the registration of industrial chemicals under the new European Union regulation on chemicals REACH (Registration, Evaluation, and Authorisation of Chemicals), the first registration dossiers for substances produced or imported in quantities of 1000 tonnes or more per year had to be submitted to the European Chemicals Agency (ECHA) by November 30, 2010. The team of the Department of Chemical Risk Assessment at the Fraunhofer ITEM prepared the registration dossiers for a number of substances with the largest manufacturing or import quantities.

A key issue of the registration dossiers for industrial chemicals – besides comprehensive data on the effects on man and the environment – is the deduction of general conditions for the safe handling of each substance in the context of the identified uses. This requires the definition of threshold values below which no negative effects on man and the environment are to be expected: Derived No Effect Levels (DNEL) for toxicological endpoints and Predicted No Effect Concentrations (PNEC) for the ecotoxicological evaluation. These values are then compared with the estimated exposures for the identified uses, and this results in an assessment as to whether the substance is considered safe to use.

Difficulties

Reaching consensus about the uses of a substance between its manufacturers, processing companies, and users turned out to be a difficult task, because in the different sectors terms have different meanings and are used differently. Constant updates of the technical guidelines did not improve this situation either, but only added to the confusion. Furthermore, some of the important software tools for the registration process were made available later than announced or are still being developed. Other tools turned out to perform incorrectly.

Solutions

In spite of the above mentioned difficulties, all substances with the largest manufacturing or import quantities that were taken care of by the Fraunhofer ITEM could be registered in due time and in compliance with the legal regulations. The experience gained during this process (in the areas of exposure assessment and deduction of threshold limits, but also in the discussions within the consortia and between the different players involved in the supply chain) will be useful in the next registration phases for substances manufactured at smaller quantities and, if required, in the revision of already submitted dossiers.

In addition, the team of this department is currently working on a project comparing the different national substance assessment methods. This project has been commissioned by the German Federal Environment Agency and involves a comparative investigation of the different methods used for the deduction of levels of effect and threshold values.

Outlook

The interdisciplinary team of the Department of Chemical Risk Assessment will continue to play an active role in the further development of REACH by collaborating in different working committees, e.g. the Lower Saxony working committee on European chemicals policy. The experience gained so far will be presented to this working committee and added to the discussion. As a result of this, and also due to many years of experience in the different areas of chemical risk assessment, the team is capable of providing competent support to companies in the implementation of REACH.

CONTACT



Dr. Gustav Könencker
Phone +49 511 5350-328
gustav.koenencker@item.fraunhofer.de

Project Report

AUTHORIZATION OF BIOCIDAL PRODUCTS: APPLICANTS ARE FACING NEW CHALLENGES

SUMMARY

Biocidal products are subject to a complex authorization process, involving a variety of hurdles which companies have to overcome. At the Fraunhofer ITEM, a cross-disciplinary team from the Department of Chemical Risk Assessment has been developing concepts and systems that may facilitate the preparation of dossiers for product authorization and help reduce the number of studies necessary.

The use of biocidal products has become a part of our everyday life. Biocidal products include not only disinfectants and insecticides, but also products which extend the service life of materials such as paper or wood or which help sustain smooth working and production processes. Because of their pest-controlling effects, they offer on the one hand a high degree of protection, but on the other hand they also pose potential hazards to man and the environment. This is why biocidal active substances and biocidal products are subject to a complex registration and authorization process laid down in the Biocidal Products Directive (BPD 98/8/EC).

New concepts for product authorization

The assessment of numerous biocidal active substances is currently in its final phase, and their inclusion into Annex I/IA is being discussed. The next challenge to be faced is the development of concepts that will facilitate the preparation of dossiers for product authorization. In particular to support companies that are planning to bring a large number of products to the market, a data management system has been developed at the Fraunhofer ITEM. It quickly analyzes data gaps and checks whether existing information from other products could be transferred (read-across); one of the aims is to avoid unnecessary (animal) testing.

The concept of "frame formulations" is intended to be a further simplification. This is applicable when companies apply for the authorization of several products that include the same active substances and major components and differ only in the use



of perfumes and coloring agents. In addition, the type of application and the designated use must be identical for these products. Changes in the composition must neither increase the risk to man and the environment nor decrease the product's efficacy. It is important to note that even a single additional ingredient can change the risk assessment and also the classification of the product. Before product authorization via the frame formulations tool can be planned, a detailed analysis of the product compositions must be performed taking into account all of the ingredients and also possible cumulative toxicities.

Testing of the microbial efficacy

Another key point of the Biocidal Products Directive is the testing of products for their microbial efficacy. This means that evidence has to be provided that a product shows sufficient efficacy at the recommended concentration of use without producing harmful effects on man, animals, or the environment. Of particular interest is the fact that all specific claims, i.e. labels such as "bactericidal", "tuberculocidal" or "virucidal" efficacy have to be substantiated by appropriate tests.

In contrast to the minimal efficacy requirements active substances have to meet to be included in Annex I, a comprehensive and complete efficacy profile thus has to be presented for biocidal products. This profile can differ according to the product and depends on the claim of the product and the product type for which the product is to be authorized. If, for example, a product is to be authorized both as a disinfectant in the food processing sector and as a surface disinfectant for use in hospitals, different tests will have to be performed, even though efficacy against the same target organisms is claimed.

Consequently, there are no generally valid guidelines for the authorization of biocidal products, but the applicable guidelines and required tests for the product or product group in

question have to be determined depending on the particular claim. For the assessment of the efficacy, certain endpoints are crucial in addition: a test is considered "passed", if the product inhibits or kills a certain number of test organisms within a defined time frame. In particular for biocidal products of the product types 6 to 22 it is rather difficult to identify the relevant guideline and find suitable testing laboratories.

No clear distinction from other regulations

Further difficulties in the authorization process for biocidal products are, for example, the assessment of mixture toxicities or of cumulative toxicity, and also the lack of a clear distinction from other regulations (borderlines to plant protection products, pharmaceuticals, or cosmetic ingredients). Even within the European Union, different regulations exist, for example, as to whether sun lotions including insect repellents (to protect against mosquito bites) are to be considered biocidal or cosmetic products.

In summary, the greatest challenge is caused by the different data requirements that result from the product type, claim, and composition. The cross-disciplinary team in the Department of Chemical Risk Assessment is continually developing strategies to enable an efficient use of existing data. Having many years of experience in the preparation of dossiers for active substances, the Fraunhofer ITEM staff is capable of efficiently supporting their clients in the authorization process for biocidal products.



CONTACT

Dr. Annette Bitsch
Phone +49 511 5350-302
annette.bitsch@item.fraunhofer.de

**TESTING AND REGISTRATION
OF CHEMICALS, BIOCIDES
AND PESTICIDES**

Business Unit 4

PROJECT OVERVIEW

Assessment of chemicals	Preparation and update of IUCLID data sets, SIDS Initial Assessment Profiles, and SIAR Hazard Assessments for industrial chemicals under the HPV initiative of the International Council of Chemical Associations (ICCA); particular experience exists in the work with category approaches	Preparation of risk assessments regarding human health and the environment under HERA (Human and Environmental Risk Assessment on Ingredients of Household Cleaning Products)	Consulting contracts and notification of new substances on behalf of Japanese companies
Activities in connection with the European chemicals policy (REACH): consulting for affected companies, assistance in preparing registration, evaluation of the necessary data, preparation of IUCLID data sets and of chemical safety reports, development of testing strategies, justification for waiving, and exposure scenarios	Preparation of International Chemical Safety Cards (ICSC) under the WHO International Programme on Chemical Safety (IPCS)	Preparation of substance reports for the German "Noxious Agents Information System" (NIS) on behalf of different German <i>Länder</i> ministries	Preparation of expert reports on the toxicology of different chemicals
			Toxicological expert reports and risk assessment of impurities or residues in medicinal products

Biocides	QSAR, databases	Assessment of human and veterinary pharmaceuticals	Exposure assessments
Preparation of dossiers for assessment of existing biocides under the 4 th priority list of the European Biocidal Products Guideline, including development of exposure scenarios and testing strategies	Analysis of extrapolation factors for time, interspecies, and routes, and combination of the distributions on behalf of ERASM	Assessment of the environmental effects of pharmaceuticals	Preparation of "Environmental Health Criteria Documents" (EHC) on "Dermal exposure" under the WHO IPCS
Preparatory development of a concept for preparation of dossiers for product authorization; incl. study monitoring, risk assessments, development of exposure scenarios and testing strategies	Report on the structure-activity relationships of glycol ether on behalf of the Health and Food Safety Authority of the <i>Land</i> Bavaria	Preparation of expert reports for registration of veterinary drugs	

FRAUNHOFER-GESELLSCHAFT

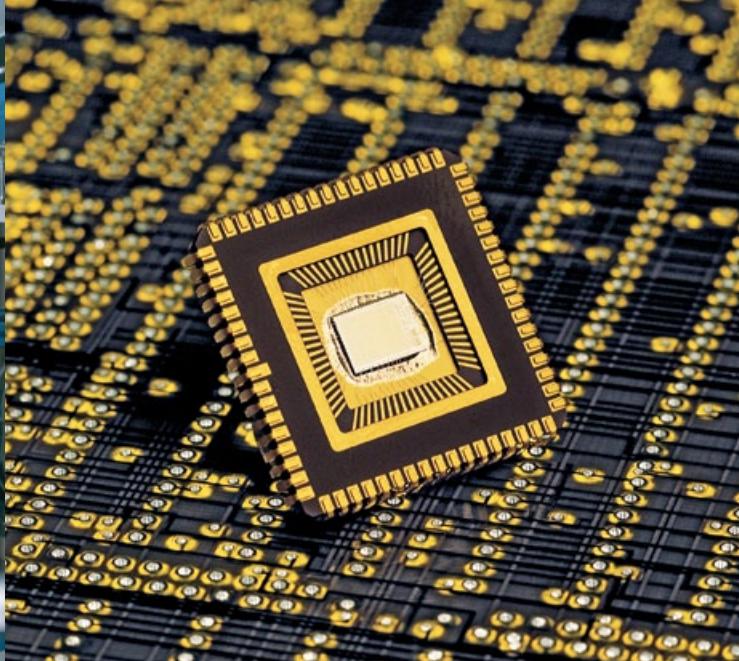
Research of practical utility lies at the heart of all activities pursued by the Fraunhofer-Gesellschaft. Founded in 1949, the research organization undertakes applied research that drives economic development and serves the wider benefit of society. Its services are solicited by customers and contractual partners in industry, the service sector and public administration.

At present, the Fraunhofer-Gesellschaft maintains more than 80 research units in Germany, including 60 Fraunhofer institutes. The majority of the more than 18,000 staff are qualified scientists and engineers, who work with an annual research budget of €1.65 billion. Of this sum, more than €1.40 billion is generated through contract research. More than 70 percent of the Fraunhofer-Gesellschaft's contract research revenue is derived from contracts with industry and from publicly financed research projects. Almost 30 percent is contributed by the German federal and *Länder* governments in the form of base

funding, enabling the institutes to work ahead on solutions to problems that will not become acutely relevant to industry and society until five or ten years from now.

Affiliated international research centers and representative offices provide contact with the regions of greatest importance to present and future scientific progress and economic development.

With its clearly defined mission of application-oriented research and its focus on key technologies of relevance to the future, the Fraunhofer-Gesellschaft plays a prominent role in the German and European innovation process. Applied research has a knock-on effect that extends beyond the direct benefits perceived by the customer: Through their research and development work, the Fraunhofer institutes help to reinforce the competitive strength of the economy in their local region, and throughout Germany and Europe. They do so by



promoting innovation, strengthening the technological base, improving the acceptance of new technologies, and helping to train the urgently needed future generation of scientists and engineers.

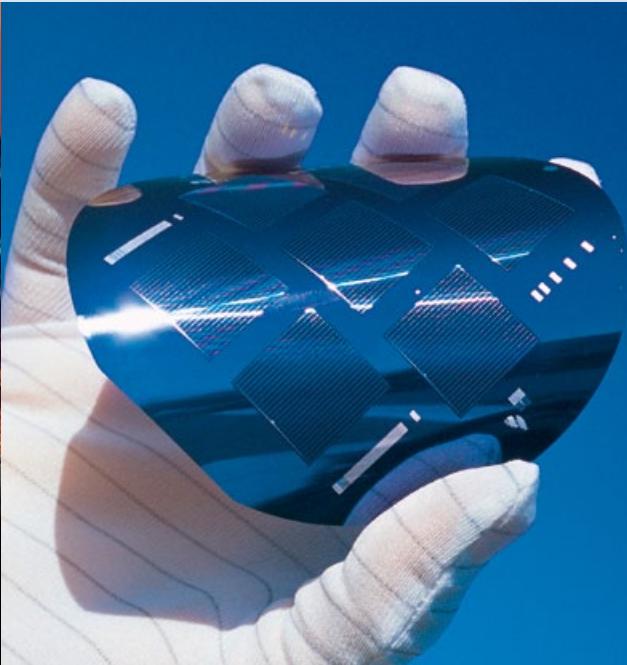
As an employer, the Fraunhofer-Gesellschaft offers its staff the opportunity to develop the professional and personal skills that will allow them to take up positions of responsibility within their institute, at universities, in industry and in society. Students who choose to work on projects at the Fraunhofer institutes have excellent prospects of starting and developing a career in industry by virtue of the practical training and experience they have acquired.

The Fraunhofer-Gesellschaft is a recognized non-profit organization that takes its name from Joseph von Fraunhofer (1787–1826), the illustrious Munich researcher, inventor and entrepreneur.

CONTACT

Fraunhofer-Gesellschaft
Press and Public Relations
Franz Miller
Phone +49 89 1205-1333
Fax +49 89 1205-7515

Hansastraße 27c
80686 München (Germany)

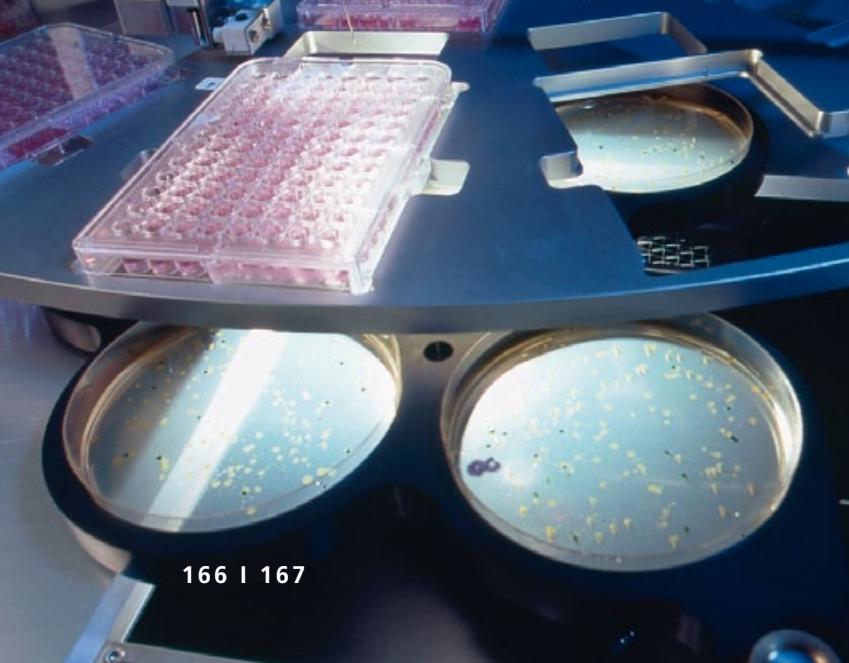


FRAUNHOFER GROUP FOR LIFE SCIENCES

RESEARCH FOR HUMAN HEALTH AND THE ENVIRONMENT

Six Fraunhofer institutes have focused their research on the life sciences. In the Fraunhofer Group for Life Sciences they have pooled their competencies in biology, biomedicine, pharmacology, toxicology, and food technology. With a staff of about 900, the Fraunhofer Group for Life Sciences is an important R&D partner for the pharmaceutical and biotechnology sectors as well as for the chemicals industry and medical technology companies.

The Fraunhofer Institutes for Biomedical Engineering (IBMT), Interfacial Engineering and Biotechnology (IGB), Molecular Biology and Applied Ecology (IME), Toxicology and Experimental Medicine (ITEM), Cell Therapy and Immunology (IZI), and Process Engineering and Packaging (IVV) combine their concentrated expertise to allow for even comprehensive projects to be undertaken for their clients. Research and development in the Fraunhofer Group for Life Sciences cover on the one



hand the preventive areas of environmental and consumer protection, and on the other hand the regenerative areas of medical therapy and ecological recovery. The broad range of methods and equipment available within the Fraunhofer Group for Life Sciences is unrivaled at so high a concentration.

What characterizes the research performed in the Fraunhofer Group for Life Sciences is its closeness to industrial application, aiming to develop solutions that meet clients' actual requirements. In addition, the institutes also undertake basic research to develop the basis for future applications in industry. The business units of the Fraunhofer Group for Life Sciences include translational medicine research and biomedical technology, regenerative medicine, healthy foodstuffs, industrial biotechnology, and research aimed at the safety of processes, chemicals, and pesticides. The Group shows ways of preserving health and the environment in an industrialized world and

develops new options for diagnosing and treating diseases in a setting of a more personalized healthcare and for remediating the environment.

CONTACTS



Fraunhofer Group for Life Sciences
Prof. Dr. Dr. Uwe Heinrich
(Group Chairman)



Central Office at the Fraunhofer ITEM
Dr. Claus-Dieter Kroggel
(Head of the Central Office)
Phone +49 511 5350-103
Fax +49 511 5350-155
claus.kroggel@vls.fraunhofer.de



NAMEN, DATEN, EREIGNISSE

NAMES, DATES, EVENTS

PUBLIKATIONEN

PUBLICATIONS

Bellmann, B.; Schaeffer, H. A.; Muhle, H. (2010)

Impact of variations in the chemical composition of vitreous mineral fibers on biopersistence in rat lungs and consequences for regulation.
In: Inhalation Toxicology 22 (10): 817-827

Berger-Preiß, E.; Gerling, S.; Apel, E.; Lampen, A.; Creutzenberg, O. (2010)
Development and validation of an analytical method for determination of 3-chloropropane-1,2-diol in rat blood and urine by gas chromatography-mass spectrometry in negative chemical ionization mode.
In: Analytical and Bioanalytical Chemistry 398 (1): 313-318

Dressel, H.; Müller, F.; Fischer, R.; Römmelt, H.; Hohlfeld, J. M.; Behr, J.; Huber, R. M.; Nowak, D.; Jörres, R. A. (2010)
Independent information of nonspecific biomarkers in exhaled breath condensate. In: Respiration 80 (5): 401-409

Elmore, S.; Bach, U.; Hailey, J.; Hill, G.; Kaufmann, W.; Latimer, K.; Malarkey, D.; Maronpot, R.; Miller, R.; Moore, R.; Morrison, J.; Nolte, T.; Rinke, M.; Rittinghausen, S.; Suttie, A.; Travlos, G.; Vahle, J.; Willson, G. (2010)
Proceedings of the 2009 National Toxicology Program Satellite Symposium. In: Toxicologic Pathology 38 (1): 9-36

Escher, S. E.; Tluczkiewicz, I.; Batke, M.; Bitsch, A.; Melber, C.; Kroese, E. D.; Buist, H. E.; Mangelsdorf, I. (2010)
Evaluation of inhalation TTC values with the database RepDose.
In: Regulatory Toxicology and Pharmacology 58 (2): 259-274

Fahrbach, M.; Krauss, M.; Preiss, A.; Kohler, H.-P. E.; Hollender, J. (2010)
Anaerobic testosterone degradation in *Steroidobacter denitrificans* – identification of transformation products. In: Environmental Pollution 158 (8): 2572-2581

Fritzinger, D. C.; Dean, R.; Meschter, C.; Wong, K.; Halter, R.; Borlak, J.; John, W. D.; Vogel, C.-W. (2010)
Complement depletion with humanized cobra venom factor in a mouse model of age-related macular degeneration. In: Advances in Experimental Medicine and Biology 703: 151-162

Fuchs, B.; Knothe, S.; Rochlitzer, S.; Nassimi, M.; Greweling, M.; Lauenstein, H. D.; Nassenstein, C.; Müller, M.; Ebensen, T.; Dittrich, A. M.; Krug, N.; Guzman, C. A.; Braun, A. (2010)
A toll-like receptor 2/6 agonist reduces allergic airway inflammation in chronic respiratory sensitisation to timothy grass pollen antigens.
In: International Archives of Allergy and Immunology 152 (2): 131-139

Garaguso, I.; Halter, R.; Krzeminski, J.; Amin, S.; Borlak, J. (2010)
Method for the rapid detection and molecular characterization of DNA alkylating agents by MALDI-TOF mass spectrometry.
In: Analytical Chemistry 82 (20): 8573-8582

George, C.; Behnke, W.; Zetzs, C. (2010)
Radicals in the atmosphere: A changing world!
In: ChemPhysChem 11 (14): 3059-3062

Hahn, S.; Schneider, K.; Gartiser, S.; Heger, W.; Mangelsdorf, I. (2010)
Consumer exposure to biocides – identification of relevant sources and evaluation of possible health effects.
In: Environmental Health. Online journal 9 (7), 11 p.

Hardy, B.; Douglas, N.; Helma, C.; Rautenberg, M.; Jeliazkova, N.; Jeliazkov, V.; Nikolova, I.; Benigni, R.; Tcheremenskaia, O.; Kramer, S.; Girschick, T.; Buchwald, F.; Wicker, J.; Karwath, A.; Gütlein, M.; Maunz, A.; Sarimveis, H.; Melagraki, G.; Afantitis, A.; Sopasakis, P.; Gallagher, D.; Poroikov, V.; Filimonov, D.; Zakharov, A.; Lagunin, A.; Gloriozova, T.; Novikov, S.; Skvortsova, N.; Druzhilovsky, D.; Chawla, S.; Ghosh, I.; Ray, S.; Patel, H.; Escher, S. (2010)
Collaborative development of predictive toxicology applications.
In: Journal of Cheminformatics 2 (1): art. 7, 29 p.

Hartwig, C.; Mazzega, M.; Constabel, H.; Krishnaswamy, J. K.; Gessner, J. E.; Braun, A.; Tschnig, T.; Behrens, G. M. N. (2010)
Fc gamma receptor-mediated antigen uptake by lung DC contributes to allergic airway hyper-responsiveness and inflammation.
In: European Journal of Immunology 40 (5): 1284-1295

Harush-Frenkel, O.; Bivas-Benita, M.; Nassar, T.; Springer, C.; Sherman, Y.; Avital, A.; Altschuler, Y.; Borlak, J.; Benita, S. (2010)
A safety and tolerability study of differently-charged nanoparticles for local pulmonary drug delivery.
In: Toxicology and Applied Pharmacology 246 (1-2): 83-90

Hasbeck, K.; Schwarz, K.; Hohlfeld, J. M.; Seume, J. R.; Koch, W. (2010)
Submicron droplet formation in the human lung. In: Journal of Aerosol Science 41 (5): 429-438

Hoffmann, P.; Huelsewig, M.; Duvar, S.; Ziehr, H.; Mormann, M.; Peter-Katalinic, J.; Friedrich, A. W.; Karch, H.; Müthing, J. (2010)
On the structural diversity of Shiga toxin glycosphingolipid receptors in lymphoid and myeloid cells determined by nanoelectrospray ionization tandem mass spectrometry.
In: Rapid Communications in Mass Spectrometry 24 (15): 2295-2304

- Hoffmann, S.; Kinsner-Ovaskainen, A.; Prieto, P.; Mangelsdorf, I.; Biele, C.; Cole, T. (2010) Acute oral toxicity: Variability, reliability, relevance and interspecies comparison of rodent LD(50) data from literature surveyed for the ACuteTox project. In: *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 58 (3): 395-407
- Hohlfeld, J. M.; Holland-Letz, T.; Larbig, M.; Lavae-Mokhtari, M.; Wierenga, E.; Kapsenberg, M.; van Ree, R.; Krug, N.; Bufl, A. (2010) Diagnostic value of outcome measures following allergen exposure in an environmental challenge chamber compared with natural conditions. In: *Clinical & Experimental Allergy* 40 (7): 998-1006
- Jack, T.; Brent, B. E.; Böhne, M.; Müller, M.; Sewald, K.; Braun, A.; Wessel, A.; Sasse, M. (2010) Analysis of particulate contaminations of infusion solutions in a pediatric intensive care unit. In: *Intensive Care Medicine* 36 (4): 707-711
- Knothe, S.; Mutschler, V.; Rochlitzer, S.; Winkler, C.; Ebensen, T.; Guzman, C. A.; Hohlfeld, J.; Braun, A.; Müller, M. (2010) Local treatment with BPPcysMPEG reduces allergic airway inflammation in sensitized mice. In: *Immunobiology*. May 8 (Epub ahead of print)
- Krüwel, T.; Schenone, S.; Radi, M.; Maga, G.; Rohrbeck, A.; Botta, M.; Borlak, J. (2010) Molecular characterization of c-Abl/c-Src kinase inhibitors targeted against murine tumour progenitor cells that express stem cell markers. In: *PLoS one* 5 (11): art. e14143, 15 p.
- Lauenstein, H. D.; Quarcoo, D.; Plappert, L.; Schleh, C.; Nassimi, M.; Pilzner, C.; Rochlitzer, S.; Brabet, P.; Welte, T.; Hoymann, H. G.; Krug, N.; Müller, M.; Lerner, E. A.; Braun, A.; Groneberg, D. A. (2010) Pituitary adenylate cyclase-activating peptide receptor 1 mediates anti-inflammatory effects in allergic airway inflammation in mice. In: *Clinical & Experimental Allergy*, Online First, 11 p.
- Lechner, F.; Kulik, U.; Klempnauer, J.; Borlak, J. (2010) Inhibition of the liver enriched protein FOXA2 recovers HNF6 activity in human colon carcinoma and liver hepatoma cells. In: *PLoS one* 5 (10): art. e13344, 12 p.
- Lechner, F.; Kulik, U.; Klempnauer, J.; Borlak, J. (2010) Mapping of liver-enriched transcription factors in the human intestine. In: *World Journal of Gastroenterology* 16 (31): 3919-3927
- Lewin, G.; Hoymann, H.-G.; Fuhs, R.; Berger-Preiß, E.; Pohlmann, G.; Buschmann, J. (2010) Assessment of pulmonary function and serum substance levels in newborn and juvenile rats. In: *Reproductive Toxicology* 30 (3): 422-428
- Lingner, S.; Hennig, C.; Remke, J.; Hansen, G.; Braun, A.; Dittrich, A. M. (2010) Adjuvant activity of carbon black particles in a mouse model of allergic asthma – characterization of particle loaded cells and their fate upon inhalation. In: *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* 125 (2), Suppl. 1: AB47
- Luckner-Minden, C.; Fischer, I.; Langhans, C.-D.; Schiller, M.; Kropf, P.; Müller, I.; Hohlfeld, J. M.; Ho, A. D.; Munder, M. (2010) Human eosinophil granulocytes do not express the enzyme arginase. In: *Journal of Leukocyte Biology* 87 (6): 1125-1132
- Nassimi, M.; Schleh, C.; Lauenstein, H. D.; Hussein, R.; Hoymann, H. G.; Koch, W.; Pohlmann, G.; Krug, N.; Sewald, K.; Rittinghausen, S.; Braun, A.; Müller-Goymann, C. (2010) A toxicological evaluation of inhaled solid lipid nanoparticles used as a potential drug delivery system for the lung. In: *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 75 (2): 107-116
- Nendza, M.; Aldenberg, T.; Benfenati, E.; Benigni, R.; Cronin, M. T. D.; Escher, S.; Fernandez, A.; Gabbert, S.; Giralt, F.; Hewitt, M.; Hrovat, M.; Jeram, S.; Kroese, D.; Madden, J. C.; Mangelsdorf, I.; Rallo, R.; Roncaglioni, A.; Rorije, E.; Segner, H.; Simon-Hettich, B.; Vermeire, T. G. (2010) Data quality assessment for in silico methods: A survey of approaches and needs. In: Cronin, M. T. D. (Ed.); Madden, J. C. (Ed.): *In silico toxicology: principles and applications*. Cambridge: RSC, 59-117 (Issues in Toxicology 7)
- Nolte, T.; Rittinghausen, S.; Kellner, R.; Karbe, E.; Kittel, B.; Rinke, M.; Deschl, U. (2010) RITA – Registry of Industrial Toxicology Animal data: The application of historical control data for Leydig cell tumors in rats. In: *Experimental and Toxicologic Pathology* Online First, 12 p.
- Passarella, D.; Peretto, B.; Blasco y Yépes, R.; Cappelletti, G.; Cartelli, D.; Ronchi, C.; Snaith, J.; Fontana, G.; Danieli, B.; Borlak, J. (2010) Synthesis and biological evaluation of novel thiocolchicine-podophyllotoxin conjugates. In: *European Journal of Medicinal Chemistry* 45 (1): 219-226
- Pham, T. L. H.; Weisshof, H.; Mügge, C.; Krause, E.; Rotard, W.; Preiß, A.; Zaspel, I. (2010) Non-Target-Analytik in der Ökologie. In: *Mitteilungen der Fachgruppe Umweltchemie und Ökotoxikologie der Gesellschaft Deutscher Chemiker* 16 (1): 2-8

NAMEN, DATEN, EREIGNISSE
NAMES, DATES, EVENTS

- Pirow, R.; Smirnova, L.; Liebsch, M.; Tharmann, J.; Luch, A.; Graebsch, C.; Bauer, M.; Linsel, G.; Siemers, R.; Otto, C.; Berger-Preiß, E.; Kock, H.; Oertel, A.; Ritter, D.; Knebel, J. (2010) Testing of the toxicity of volatile compounds on human lung cells using the Air/Liquid Interface (ALI) culturing and exposure technique: A prevalidation study. In: Alternatives to Animal Experimentation: ALTEX 27, Suppl. 2: 101
- Preiß, A.; Schuchardt, S.; Godejohann, M. (2010) Non-Target-Analytik organischer Schadstoffe im Grundwasser. In: Labor-Praxis (10), 6 p.
- Reamon-Büttner, S. M.; Borlak, J. (2010) Commentary on "Investigations of somatic NKX2-5 mutations in congenital heart disease (CHD)". In: Journal of Medical Genetics, 2 p.
- Reamon-Büttner, S. M.; Borlak, J. (2010) NKX2-5: An update on this hypermutable homeodomain protein and its role in human congenital heart disease (CHD). In: Human Mutation 31 (11): 1185-1194
- Ritter, D.; Switalla, S.; Sewald, K.; Knebel, J. (2010) PCLS (Precision Cut Lung Slices) as a putative model for genotoxicity testing by application of the comet assay. In: Mutagenesis 25 (1): 2
- Riva, E.; Comi, D.; Borrelli, S.; Colombo, F.; Danieli, B.; Borlak, J.; Evensen, L.; Lorens, J. B.; Fontana, G.; Gia, O. M.; Via, L. D.; Passarella, D. (2010) Synthesis and biological evaluation of new camptothecin derivatives obtained by modification of position 20. In: Bioorganic & Medicinal Chemistry 18 (24): 8660-8668
- Rohrbeck, A.; Salinas, G.; Maaser, K.; Linge, J.; Salovaara, S.; Corvi, R.; Borlak, J. (2010) Toxicogenomics applied to *in vitro* carcinogenicity testing with Balb/c 3T3 cells revealed a gene signature predictive of chemical carcinogens. In: Toxicological Sciences 118 (1): 31-41
- Schleh, C.; Erpenbeck, V. J.; Winkler, C.; Lauenstein, H. D.; Nassimi, M.; Braun, A.; Krug, N.; Hohlfeld, J. M. (2010) Allergen particle binding by human primary bronchial epithelial cells is modulated by surfactant protein D. In: Respiratory Research 11: art. 83, 33 p.
- Schulze, T.; Weiss, S.; Schymanski, E.; Ohe, P. C. von der; Schmitt-Jansen, M.; Altenburger, R.; Streck, G.; Brack, W. (2010) Identification of a phytotoxic photo-transformation product of diclofenac using effect-directed analysis. In: Environmental Pollution 158 (5): 1461-1466
- Schwarz, K.; Biller, H.; Windt, H.; Koch, W.; Hohlfeld, J. M. (2010) Characterization of exhaled particles from the healthy human lung – a systematic analysis in relation to pulmonary function variables. In: Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery 23 (6): 371-379
- Solecki, V.; Heinrich, M.; Rauch, I.; Chahoud, K.; Grote, B.; Wölffel, B.; Buschmann, J.; Morawietz, G.; Kellner, R.; Lingk, W. (2010) The DevTox site: Harmonized terminology and database. In: McQueen, C.A.: Comprehensive toxicology. Vol. 12: Developmental toxicology, chapter 12.22. Amsterdam: Elsevier, 339-346
- Su, Z.-H.; Zou, G.-A.; Preiss, A.; Zhang, H.-W.; Zou, Z.-M. (2010) Online identification of the antioxidant constituents of traditional Chinese medicine formula Chaihu-Shu-Gan-San by LC-LTQ-Orbitrap mass spectrometry and microplate spectrophotometer. In: Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 53 (3): 454-461
- Switalla, S.; Knebel, J.; Ritter, D.; Krug, N.; Braun, A.; Sewald, K. (2010) Effects of acute *in vitro* exposure of murine precision-cut lung slices to gaseous nitrogen dioxide and ozone in an air-liquid interface (ALI) culture. In: Toxicology Letters 196 (2): 117-124
- Switalla, S.; Lauenstein, L.; Prenzler, F.; Knothe, S.; Förster, C.; Fiegh, H.-G.; Pfennig, O.; Schaumann, F.; Martin, C.; Guzman, C. A.; Ebensen, T.; Müller, M.; Hohlfeld, J. M.; Krug, N.; Braun, A.; Sewald, K. (2010) Natural innate cytokine response to immunomodulators and adjuvants in human precision-cut lung slices. In: Toxicology and Applied Pharmacology 246 (3): 107-115
- Thum, T.; Batkai, S.; Malinski, P. G.; Becker, T.; Mevius, I.; Klempnauer, J.; Meyer, H. H.; Frölich, J. C.; Borlak, J.; Tsikas, D. (2010) Measurement and diagnostic use of hepatic cytochrome P450 metabolism of oleic acid in liver disease. In: Liver International 30 (8): 1181-1188
- Tillmann, T.; Ernst, H.; Streckert, J.; Zhou, Y.; Taugner, F.; Hansen, V.; Dasenbrock, C. (2010) Indication of cocarcinogenic potential of chronic UMTS-modulated radiofrequency exposure in an ethylnitrosourea mouse model. In: International Journal of Radiation Biology 86 (7): 529-541
- Tluczakiewicz, I.; Bitsch, A.; Hahn, S.; Hahn, T. (2010) Emission of biocides from hospitals. Comparing current survey results with European Union default values. In: Integrated Environmental Assessment and Management 6 (2): 273-280
- Vermeire, T.; Bovenkamp, M. von de; Bruin, Y. B. de; Delmaar, C.; Engelen, J. van; Escher, S.; Marquart, H.; Meijster, T. (2010) Exposure-based waiving under REACH. In: Regulatory Toxicology and Pharmacology 58 (3): 408-420

PROMOTIONEN DOCTORATES

Volk, J.; Leyhausen, G.; Beckedorf, A.; Weitz, A.; Fitz-Maier, H.;

Ziemann, C.; Geurtsen, W. (2010)

Genotoxic potential of TEGDMA in oral epithelial cells.

In: Journal of Dental Research 89, Special Issue B: Abstr. 719

Ward, E. M.; Schulte, P. A.; Straif, K.; Hopf, N. B.; Caldwell, J. C.; Carreon, T.; DeMarini, D. M.; Fowler, B. A.; Goldstein, B. D.; Hemminki, K.; Hines, C. J.; Pursiainen, K. H.; Kuempel, E.; Lewtas, J.; Lunn, R. M.; Lynge, E.; McElvenny, D. M.; Muhle, H.; Nakajima, T.; Robertson, L. W.; Rothman, N.; Ruder, A. M.; Schubauer-Berigan, M. K.; Siemiatycki, J.; Silverman, D.; Smith, M. T.; Sorahan, T.; Steenland, K.; Stevens, R. G.; Vineis, P.; Zahm, S. H.; Zeise, L.; Cogliano, V. J. (2010) Research recommendations for selected IARC-classified agents.

In: Environmental Health Perspectives 118 (10): 1355-1362

Windt, H.; Kock, H.; Runge, F.; Hübel, U.; Koch, W. (2010)

Particle deposition in the lung of the Göttingen minipig.

In: Inhalation Toxicology 22 (10): 828-834

Winkler, C.; Hüper, K.; Wedekind, A.-C.; Rochlitzer, S.; Hartwig, C.; Müller, M.; Braun, A.; Krug, N.; Hohlfeld, J. M.; Erpenbeck, V. J. (2010) Surfactant protein D modulates pulmonary clearance of pollen starch granules.

In: Experimental Lung Research 36 (9): 522-530

Wolff, M.; Tetzlaff, K.; Nivens, M. C.; Schneider, F.-J.; Jung, B.; Hohlfeld, J.; Heilker, R. (2010)

In vivo inhibition of epidermal growth factor receptor autophosphorylation prevents receptor internalization.

In: Experimental Cell Research 317 (1): 42-50

Woodruff, P. G.; Wolff, M.; Hohlfeld, J. M.; Krug, N.; Dransfield, M. T.; Sutherland, E. R.; Criner, G. J.; Kim, V.; Prasse, A.; Nivens, M. C.; Tetzlaff, K.; Heilker, R.; Fahy, J. V. (2010)

Safety and efficacy of an inhaled epidermal growth factor receptor inhibitor (BIBW 2948 BS) in chronic obstructive pulmonary disease.

In: American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine 181 (5): 438-445

Ziemann, C.; Hansen, T.; Pohlmann, G.; Farrar, D.; Pohlenz-Michel, C.; Tillmann, T.; Mangelsdorf, I. (2010)

Genotoxicity testing of sulfur dioxide (SO₂) in a mouse bone marrow micronucleus test complemented with hematological endpoints.

In: Mutation Research. Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis 697 (1-2): 38-46

Zwadlo, C.; Borlak, J. (2010)

Impaired tissue clearance of verapamil in rat cardiac hypertrophy results in transcriptional repression of ion channels.

In: Xenobiotica
40 (4): 291-299

Matthias Ebrahimi-Nassimi

Lipidnanopartikel als Arzneistoffträger für die pulmonale Applikation.
Technische Universität Braunschweig

August 2010

Lipid nanoparticles as drug carriers for pulmonary administration.
Braunschweig Technical University
August 2010

Saskia Knothe

Prävention des allergischen Asthma bronchiale: Beurteilung des immunmodulierenden Potenzials von Prüfsubstanzen *in vitro* und *in vivo*.

Medizinische Hochschule Hannover

August 2010

Prevention of allergic bronchial asthma: evaluation of the immuno-modulatory potential of test substances *in vitro* and *in vivo*.
Hannover Medical School
August 2010

Hans-Dieter Lauenstein

Agonisierung des PAC1-Rezeptors vermittelt antiinflammatorische Effekte in murinen Modellen des allergischen Asthma.
Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover

März 2010

PAC1 receptor agonization mediates anti-inflammatory effects in murine models of allergic asthma.
Gottfried Wilhelm Leibniz University Hannover

March 2010

Sabine Rochlitzer

Neuroimmune Interaktion von dendritischen Zellen und sensorischen Nerven der Lunge im allergischen Asthma.

Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover

November 2010

Neuroimmune interaction of dendritic cells with sensory nerves in the lung in allergic asthma.
Gottfried Wilhelm Leibniz University Hannover
November 2010

NAMEN, DATEN, EREIGNISSE
NAMES, DATES, EVENTS

DIPLOMARBEITEN

DEGREE

DISSERTATIONS

Erwin M. Schoolmann

Pilotstudie zur Bestimmung von exhaliertem Stickstoffmonoxid (NO) bei Patienten mit allergischer Rhinitis (Asthmatiker und Nicht-asthmatischer) vor und nach inhalativer Allergen-Exposition in einem Pollenraum.
Medizinische Hochschule Hannover
Mai 2010
Pilot study to determine exhaled nitric oxide (NO) in patients with allergic rhinitis (asthmatics and non-asthmatics) before and after allergen inhalation exposure in an environmental challenge chamber.
Hannover Medical School
May 2010

Carla Winkler

Funktion von Surfactant-Protein-D und seine Strukturänderungen bei akuter und chronischer Atemwegsentzündung.
Medizinische Hochschule Hannover
November 2010
Function of surfactant protein D and its structural alterations during acute and chronic airway inflammation.
Hannover Medical School
November 2010

Margit Jahnel

Charakterisierung experimenteller Spindelgifte und c-Abl/c-Src dualer Kinasehemmstoffe in der Therapie von Adenokarzinomen der Lunge.
Fachhochschule Jena
November 2010
Characterization of experimental spindle toxins and c-Abl/c-Src dual kinase inhibitors in the treatment of lung adenocarcinoma.
University of Applied Sciences Jena
November 2010

Yongjin Yang

Charakterisierung und Optimierung der Produktion eines scFv-Antikörperfragments in *Bacillus megaterium*.
Technische Universität Braunschweig
November 2010
Characterization and optimization of scFv antibody fragment production in *Bacillus megaterium*.
Braunschweig Technical University
November 2010

BACHELORARBEITEN

BACHELOR'S THESES

Thi Ngoc Hanh Phan

Proteinexpression in CHO-Zellen mit Hilfe des Glutamin-Synthetase (GS)-Systems.
Fachhochschule Aachen, Abteilung Jülich
September 2010
Protein expression in CHO cells by using the glutamine synthetase (GS) system.
University of Applied Sciences Aachen, Juelich campus
September 2010

Julia Reinke

Ex vivo Comet Assay und Mikrokerntest an primären Typ II-Zellen der Ratte.
Fachhochschule Emden-Leer
Januar 2010
Ex vivo Comet assay and micronucleus test in primary alveolar epithelial type-II cells of the rat.
University of Applied Sciences Emden-Leer
January 2010

Mareike Voges

Optimierung der Kulturbedingungen für Lungenschnitte durch Zugabe von Insulin und Serum.
Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover
Juni 2010
Optimization of the culturing conditions for lung slices by supplementing insulin and serum.
Gottfried Wilhelm Leibniz University Hannover
June 2010

Maria Wiedow

Durchführung einer IST-Analyse im Rahmen der Einführung eines Dokumentenmanagementsystems: Ein Pilotprojekt für die Abteilung "Klinische Atemwegforschung" am Fraunhofer ITEM.
Fachhochschule Hannover
Januar 2010
Analysis of the present situation in view of the introduction of a document management system: a pilot project for the Fraunhofer ITEM Department of Clinical Airway Research.
University of Applied Sciences Hannover
January 2010

VORSITZ AUF KONGRESSEN UND TAGUNGEN

CHAIRMANSHIP AT CONGRESSES AND CONFERENCES

Priv-Doz. Dr. Armin Braun

Models of Asthma and COPD. 9th Workshop, Fraunhofer ITEM.
Hannover (Germany)
January 22-23, 2010

Immunomodulation via Cytokines II. World Immune Regulation
Meeting IV (WIRM-IV).
Davos (Switzerland)
March 29-April 1, 2010

The value of animal models of asthma.
EAACI Congress.
London (UK)
June 6, 2010

Poster-Session des GRK 1441.
5. Deutscher Allergiekongress.
Hannover (Germany)
September 9, 2010

Prof. Dr. Clemens Dasenbrock

“Einführung in die Toxikologie für Chemiker” am Fraunhofer ITEM,
Leitung des GdCh-Fortbildungskurses.
Hannover (Germany)
April 14-16, 2010

Symposium “Allergische Reaktionen der Lunge”.
5. Deutscher Allergiekongress.
Hannover (Germany)
September 11, 2010

Prof. Dr. Jens Hohlfeld

Das Einmaleins der Allergiediagnostik vom Soforttyp.
5. Deutscher Allergiekongress.
Hannover (Germany)
September 10, 2010

Asthma/Autoimmunerkrankungen.
Herbsttreffen der Sektion Zellbiologie in der DGP.
Berlin (Germany)
November 12, 2010

Prof. Dr. Norbert Krug

Session: New therapeutic targets and technologies.
9th Workshop “Models of Asthma and COPD”, Fraunhofer ITEM.
Hannover (Germany)
January 23, 2010

Session: Asthma und nicht-allergologische Triggerfaktoren – was ist
gesichert?
5. Deutscher Allergiekongress.
Hannover (Germany)
September 10, 2010

GELADENE VORTRÄGE AUF KONGRESSEN UND TAGUNGEN

INVITED LECTURES AT CONGRESSES AND CONFERENCES

Priv-Doz. Dr. Armin Braun

Dynamic imaging of airway mucosal dendritic cell activity ex vivo.
SFB 530 guest seminar
Homburg (Germany)
February 18, 2010

The value of animal models of asthma. EAACI Congress.
London (UK)
June 6, 2010

Neuroimmunologie der Allergie. 5. Deutscher Allergiekongress.
Hannover (Germany)
September 9, 2010

Dr. Otto Creutzberg

Potential biological interactions and toxicity of nanomaterials in
the respiratory tract. EUROTOX Postsatellite Meeting.
Dresden (Germany)
April 22-24, 2010

Nanotechnologie – Stand der Forschung und Erkenntnisse zur
biologischen Wirkung. Technische Akademie Wuppertal,
Arbeitsmedizin 2010.
Wuppertal (Germany)
April 28-29, 2010

Besonderheiten der Gefährdungsbeurteilung bei Produktion und
Handhabung von Nanopartikeln. Laser-Zentrum Hannover.
Hannover (Germany)
May 6, 2010

Prof. Dr. Clemens Dasenbrock, Dr. Jochen Buschmann, Priv.-Doz. Dr. Holger Garn

Toxicity testing for inhalation biopharmaceuticals. 9th Workshop
“Models of Asthma and COPD”. Fraunhofer ITEM.
Hannover (Germany)
January 23, 2010

Dr. Heinrich Ernst

Proliferative lesions of the upper respiratory tract in rodents.
8th European Congress of Toxicologic Pathology.
Budapest (Hungary)
September 29, 2010

Dr. Ilona Fleischhauer

Audits bei klinischen Studien. Beitrag im Fortbildungskurs
“Qualifikation als Prüfärzt/Prüfärztin bzw. Assistenz in klinischen
Studien” des KS-MHH.
Hannover (Germany)
March 4 and September 15, 2010

Professor Dr. Dr. Uwe Heinrich

Gibt es unterschiedliche gesundheitliche Wirkungen von Nano- und
Mikropartikeln? Forum Occupational Medicine, Hannover Medical
School.
Hannover (Germany)
February 20, 2010

Pre-clinical and clinical research in drug development at the
Fraunhofer ITEM. BioJapan 2010, Pacifico Yokohama.
Yokohama (Japan)
September 29, 2010

NAMEN, DATEN, EREIGNISSE
NAMES, DATES, EVENTS

Experimental approaches to reduce the risk of clinical failure in the respiratory drug development process. 2010 Translational Research Excellence Conference (TRX10).
Brisbane (Australia)
October 12, 2010

Toxicological aspects in the safety assessment of nanomaterials.
German Society for Regulatory Affairs (DGRA) Symposium
"New Trends in Regulatory Toxicology of Pharmaceuticals".
Bonn (Germany)
December 13, 2010

Prof. Dr. Jens Hohlfeld

Surfactant Protein D: Regulation, Modifikation und Bedeutung beim Asthma bronchiale. University of Bern, Institute of Anatomy.
Bern (Switzerland)
April 28, 2010

Asthma und Umwelt. 5. Deutscher Allergiekongress.
Hannover (Germany)
September 10, 2010

Airway challenges with grass pollen, allergen extract, endotoxin and ozone for proof-of-concept studies in humans. Nycomed GmbH.
Konstanz (Germany)
October 20, 2010

Breathe in, breathe out – Wege zur Therapie und Diagnostik.
Update Pneumologie 2010. Klinikum Oststadt-Heidehaus.
Hannover (Germany)
November 13, 2010

Zukünftige Aspekte: Welche Studien fehlen im Bereich COPD?
Expertentreffen 2010: "Die COPD in klinischen Studien".
Mainz (Germany)
December 4, 2010

Prof. Dr. Wolfgang Koch

Gesundheitsbewertung von Imprägniersprays. Vortrag bei der BfR-Kommission zur Bewertung von Vergiftungen, Bundesinstitut für Risikobewertung (German Federal Institute for Risk Assessment, BfR).
Berlin (Germany)
November 18, 2010

Risikobewertung und Regulation von Feinstäuben. DGPT-Kurs
"Regulatorische Toxikologie".
Hannover (Germany)
September 20-24, 2010

Prof. Dr. Norbert Krug

Personalisierte Medizin in der Medikamentenentwicklung.
6. Symposium "Krankenhaus der Zukunft".
Hannover (Germany)
March 10, 2010

The influence of ambient particles on the allergic inflammation in asthma. Third World Asthma & COPD Forum.
Dubai (United Arab Emirates)
April 26, 2010

Animal models for human asthma: the perspective of a clinician.
Third World Asthma & COPD Forum.
Dubai (United Arab Emirates)
April 27, 2010

Neue Ansätze, individualisierte Therapie. 5. Deutscher Allergiekongress.
Hannover (Germany)
September 10, 2010

Klinische Untersuchungen. 5. Deutscher Allergiekongress.
Hannover (Germany)
September 11, 2010

Hans-Dieter Lauenstein

Die Funktion von pituitary adenylate cyclase activating polypeptide-receptor 1 in einem murinen Modell für allergisches Asthma.
51. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Pneumologie und Beatmungsmedizin e. V.
Hannover (Germany)
March 17-20, 2010

Dr. Sven Schuchardt, Dr. René Zahedi

From environmental analytics to new insights into molecular and system biology. GBM-Mini-Symposium "Molecular Life Science", Goethe Universität Frankfurt.
Frankfurt/Main (Germany)
September 27-28, 2010

Dr. Katharina Sewald

Use of human precision-cut lung slices for testing of anti-inflammatory drugs. 9th Workshop "Models of Asthma and COPD". Fraunhofer ITEM.
Hannover (Germany)
January 23, 2010

BEITRÄGE ZU KONGRESSEN UND TAGUNGEN

CONTRIBUTIONS TO CONGRESSES AND CONFERENCES

Albrecht M., Preston-Hurlburt P., Hoymann H.-G., Braun A.,

Bottomly K., Dittrich A.-M.

Th17 cells in the lung facilitate priming towards new antigens and induce airway hyperresponsiveness.

In: Allergy 65 (Suppl. 92): 70, Abs. No. 154, 2010. EAACI 2010.

London (UK)

June 6-9, 2010

Bethke T. D.; Hohlfeld J. M., Krug N., Grootendorst D. C., Rabe K. F. Pharmacodynamic effects of the selective PDE4-inhibitor roflumilast in humans.

In: Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology 381 (2010), Supplement 1, p. 87. 51st Annual Meeting of the German Society for Experimental and Clinical Pharmacology and Toxicology (DGPT).

Mainz (Germany)

March 23-25, 2010

Bitsch A.

Regulation von Bioziden. Vortrag, DGPT-Fortbildungskurs "Regulatorische Toxikologie", Niedersächsisches Landesgesundheitsamt.

Hannover (Germany)

September 20-24, 2010

Borlak J., Kramer, P.-J.

Preclinical Drug Safety – Arzneimittel Metabolismus & Toxikologie. FORUM Institut für Management.

Mannheim (Germany)

December 9-10, 2010

Borlak J.

From mice to man? Replacing meaningless animal studies through sophisticated alternative testing methods. Workshop "Toxicity Testing in the 21st Century and Alternative Methods".

Milan (Italy)

November 26, 2010

Borlak J.

Detection of early signals of hepatotoxicity by gene expression profiling studies with cultures of metabolically competent human hepatocytes.

Symposium "The Strategy for New Drug Development Using Omics Technology" of the Korean Society of Applied Pharmacology.

Seoul (Korea)

November 4-5, 2010

Borlak J.

The colloquium on omics biomarker development for drug safety assessment. National Institute of Food, Drug, and Safety Evaluation.

Seoul (Korea)

November 4, 2010

Borlak J.

A recap of the current status of toxicogenomics applied to the drug development process. 6th International Conference on Toxicogenomics.

Incheon/Seoul (Korea)

November 4-5, 2010

Borlak J.

Epigenetic silencing of tumor suppressor genes. Institut Albert Bonniot, Université Joseph Fourier.

Grenoble (France)

October 19, 2010

Borlak J.

Identification and characterization of a novel class of tyrosine kinase inhibitors which are active against a large panel of tumor progenitor cells that express stem cell marker. EU COST Action: Inhibitors of angiogenesis, Training School and MC Meeting.

Rhodes (Greece)

September 26-October 1, 2010

Borlak J.

Targeting cancer stem cells by drug loaded immunonanoparticles. Central European Congress of Life Sciences Eurobiotech 2010.

Krakow (Poland)

September 20-22, 2010

Borlak J.

Toxicology of nanoparticles. MINATEC Crossroads '10, workshop on organic nano-assemblies for *in vivo* applications "Green *in vivo*".

Grenoble (France)

June 21-22, 2010

Borlak J.

Keynote: Toxicology of nanoparticles for *in vivo* applications. MINATEC Crossroads '10, workshop "Nanostructures for clinical diagnosis and therapy".

Grenoble (France)

June 21, 2010

NAMEN, DATEN, EREIGNISSE
NAMES, DATES, EVENTS

Borlak J.

Drug-induced liver injury (DILI). Molecular insights translated into DILI prevention programs. Drug-Induced Liver Toxicity Conference. Zurich (Switzerland)

June 29-30, 2010

Borlak J.

Epigenetic silencing of the tumor suppressor gene TSLC1 in adenocarcinomas of the lung. Thomas Friedberg Memorial Symposium. Dunkeld (UK)

May 27-28, 2010

Borlak J.

Identification and characterization of a novel class of tyrosine kinase inhibitors which are active against a large panel of tumor progenitor cells that express stem cell marker. III EWDSy – Third European Workshop in Drug Synthesis.

Siena (Italy)

May 23-27, 2010

Borlak J.

Immunonanoparticles for targeted therapies in cancer. International Symposium on Biomarkers and Molecular Imaging in Neuroendocrine Tumors.

Uppsala (Sweden)

May, 19-20, 2010

Borlak J.

Drug-loaded immunonanoparticles in the combat of cancer stem cells – safety and efficacy considerations. 3rd European Conference for Clinical Nanomedicine.

Basel (Switzerland)

May 10-12, 2010

Borlak J.

Molecular switches in dysplasia – opportunities for molecular/metabolic imaging of carcinomas *in situ*. Workshop COST Angiokem – Inhibitors of Angiogenesis: Design, Synthesis and Biological Exploitation.

Istanbul (Turkey)

April 30-May 1, 2010

Borlak J.

Improved cancer therapies through targeted drug delivery. Symposium of Haupt Pharma AG.

Münster (Germany)

April 22-23, 2010

Borlak J.

The toxicology perspective. The 6th Uppsala Spring Meeting (GE Healthcare) – The Future of Molecular Imaging.

Uppsala (Sweden)

April 12-14, 2010

Borlak J.

Immuno-Nanoparticle als Navigator zu Krebsstammzellen. Symposium der korporativen Mitglieder: Nanomedizin – Hope oder Hype? 116. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Innere Medizin e.V. Wiesbaden (Germany)

April 10-14, 2010

Borlak J.

Detection of early signals of hepatotoxicity by gene expression profiling studies with cultures of metabolically competent human hepatocytes. 3rd annual ADMET Europe conference.

Munich (Germany)

April 8-9, 2010

Borlak J.

Technology innovation in discovery development – "Combating liver induced toxicity". 3rd Annual Global Discovery and Development Innovation Forum.

Edinburgh (UK)

March 8-9, 2010

Borlak J.

Specific genetic and epigenetic changes in a lung cancer model. University of Trento.

Trento (Italy)

March 3, 2010

Costa Pinheiro N., Hahn S., Bitsch A.

Emission Scenario Documents (ESD) for biocidal products deficiencies and resulting consequences. Jahrestagung Gesellschaft Deutscher Chemiker e.V. (GDCh) – Fachgruppe Umweltchemie und Ökotoxikologie & Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC).

Dessau (Germany)

September 6-9, 2010

Costa Pinheiro N., Hahn S., Bitsch A.

Emission Scenario Documents (ESD) for biocidal products deficiencies and resulting consequences. Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC), SETAC Europe Annual Meeting.

Seville (Spain)

May 23-27, 2010

Creutzenberg O.

Tiered approach to testing and assessment of nanomaterial safety to human health – N1: zinc oxide. 12th Annual Workshop, Reduction of uncertainty enabling decision making.

Brussels (Belgium)

November 17-18, 2010

Fitz-Maier H., Volk J., Leyhausen G., Ziermann C., Geurtsen W.
Combinatorial effects of composite components on glutathione
and ROS levels in oral epithelial cells.

In: Naunyn Schmiedeberg's Archives of Pharmacology 381 (2010),
Supplement 1, p. 79. 51st Spring Meeting of the German Society for
Experimental and Clinical Pharmacology and Toxicology (DGPT).
Mainz (Germany)
March 23-25, 2010

Fritzsche J., Pohlmann G., Koch W.
Equilibrium size distribution for Brownian coagulation in a well
stirred tank reactor. International Aerosol Conference 2010.
Helsinki (Finland)
August 29-September 3, 2010

Fritzsche J., Pohlmann G., Koch W.
Coagulation of continuously generated nanoparticles under well
stirred conditions. Conference on Workplace Aerosols.
Karlsruhe (Germany)
June 28-July 2, 2010

Gerhauser I., Ernst H., Baumgärtner W., Germann P.-G., Wohlsein P.
Spontaneous lesions in the central nervous system of aging Syrian
hamsters. 28th Meeting of the European Society of Veterinary Pathology
and European College of Veterinary Pathologists.
Belgrade (Serbia)
September 8-11, 2010

Gerhauser I., Lehmbecker A., Ernst H., Baumgärtner W.,
Germann P.-G., Wohlsein P.
Spontaneous lesions in the central nervous system of aging Syrian
hamsters. 8th European Congress of Toxicologic Pathology.
Budapest (Hungary)
September 28-October 1, 2010

Hahn S., Licht O., Costa Pinheiro N., Bitsch A.
How to characterize reactive compounds or UVCB substances as
ingredients in biocidal products? Society of Environmental Toxicology
and Chemistry (SETAC), SETAC Europe Annual Meeting.
Seville (Spain)
May 23-27, 2010

Hansen T., Schleh C.
The human bronchial epithelial cell line Calu-3 as *in vitro* model of the
human airway epithelial barrier to study the transepithelial transport
of insulin.
In: ALTEX 27, Suppl. 2/2010. 16th Congress on Alternatives to Animal
Testing.
Linz (Austria)
September 1-4, 2010

Heinemann D., Ritter D., Kasper C., Eger K., Steinfeldler H. J., Ziermann C.
Comparative mechanistical investigations on the genotoxic potential
of nitrovinyluracil derivatives.

In: Naunyn Schmiedeberg's Archives of Pharmacology 381: 355,
Supplement 1, p. 74. 51st Spring Meeting of the German Society for
Experimental and Clinical Pharmacology and Toxicology (DGPT).
Mainz (Germany)
March 23-25, 2010

Hoymann H.-G., Bilstein A., Lenzen G., Herzog S., Müller M., Krug N.,
Braun A.
Effects of ectoine on early allergic response, airway hyperresponsiveness
and inflammation in ovalbumin-sensitized rats.
In: American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine 181:
A5693, 2010. ATS 2010.
New Orleans, LA (USA)
May 14-19, 2010

Hoymann H.-G., Lingner S., Braun A., Dittrich A. M.
Carbon black particles facilitate allergic sensitization and enhance
airway hyperresponsiveness in a mouse model of allergic asthma.
In: American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine 181:
A5770, 2010. ATS 2010.
New Orleans, LA (USA)
May 14-19, 2010

Hoymann H.-G., Tosiek M., Gruber A. D., Ellinghusen B., Herzog S.,
Braun A., Bruder D.
Airway hyperresponsiveness and inflammation in a model of
CD8+ T cell-mediated pulmonary disease. In: American Journal of
Respiratory and Critical Care Medicine 181: A2841, 2010. ATS 2010.
New Orleans, LA (USA)
May 14-19, 2010

Knebel J.
Toxische Wirkung von Stoffen nach Direktexposition von Lungenzellen.
BMBF-Projektforum Biotechnologie, Biotechnica.
Hannover (Germany)
October 5-7, 2010

Langer M., Booth J., Veres T. Z., Prenzler F., Sewald K., Wu W.,
Braun A., Metcalf J. P.
Bacillus anthracis spore uptake by immune cells resident in the human
lung: implications for anthrax pathology. ATS 2010.
New Orleans, LA (USA)
May 14-19, 2010

NAMEN, DATEN, EREIGNISSE
NAMES, DATES, EVENTS

- Lehmbecker A., Eydner M., Schaudien D., Ernst H., Creutzenberg O., Baumgärtner W., Rittinghausen S.
Nasal and pulmonary translocation of fine and nano TiO₂ particles after nose-only inhalation in rats. 8th European Congress of Toxicologic Pathology.
Budapest (Hungary)
September 28-October 1, 2010
- Lewin G., Hansen T., Buschmann J.
Development of haematological characteristics in newborn rats, PND 2–21.
In: Reproductive Toxicology 30: 240 (2010). 38th Annual Conference of the European Teratology Society.
Barcelona (Spain)
September 5-8, 2010
- Licht O.
Ökotoxikologie. Einführung in die Toxikologie für Chemiker und REACH/Chemikaliengesetz. Einführung in die Toxikologie für Chemiker, GDCh-Fortbildung.
Hannover (Germany)
April 2010
- Licht O.
Regulatorische Ökotoxikologie. Vorlesung, Technische Universität Dresden, Institut für Hydrobiologie.
Dresden (Germany)
Wintersemester 2009/10
- Licht O.
Vergleichbarkeit von DNEL/DMEL-Werten mit bekannten Schwellen- und Minimalwerten: Beispiele aus den Bereichen Boden-, Luft- und Trinkwasserschutz. Innenraumtag Hannover: Innenraumbelastungen und Gesundheitsschutz, Niedersächsisches Landesgesundheitsamt (NLGA) Hannover.
Hannover (Germany)
November 18-19, 2010
- Licht O., Gerdes H., Ziemann C., Bitsch A., Mangelsdorf I.
Genotoxicity of 1-propanol: Is there a problem?
In: Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology 381, Supplement 1, p. 85. 51st Spring Meeting of the German Society for Experimental and Clinical Pharmacology and Toxicology (DGPT). Mainz (Germany)
March 23-25, 2010
- Lingner S., Hennig C., Hansen G., Hoymann H.-G., Braun A., Dittrich A.-M.
Adjuvant activity of carbon black particles in a mouse model of allergic sensitisation.
In: Allergy 65 (Suppl. 92) 8, Abs. No. 16, 2010. EAACI.
London (UK)
June 6-9, 2010
- Mangelsdorf I.
Stoffbewertung in Europa anhand eines konkreten Beispiels.
Vortrag, DGPT-Fortbildungskurs "Regulatorische Toxikologie", Niedersächsisches Landesgesundheitsamt (NLGA) Hannover.
Hannover (Germany)
September 20-24, 2010
- Möder M., Baars O., Schrader S., Schmitt-Jansen M., Preiß A., Schuchardt S.
Transformation reactions of the antiviral agent Tamiflu in water.
TransCon2010.
Monte Verità, Ascona (Switzerland)
September 12-17, 2010
- Mueller M., Roehr H., Mueller-Hagen D., Krug N., Braun A., Mueller R.
Newly developed *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) lung infection model for testing of pre-clinical efficacy of bacteriophages.
In: American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine 181: A4749, 2010. ATS 2010.
New Orleans, LA (USA)
May 14-19, 2010
- Pirow R., Smirnova L., Liebsch M., Tharmann J., Luch A., Bauer M., Graebisch C., Linsel G., Siemers R., Otto C., Berger-Preiß E., Kock H., Oertel A., Ritter D., Knebel J.
Testing of the toxicity of volatile compounds on human lung cells using air/liquid interface (ALI) culturing and exposure technique: a prevalidation study.
In: ALTEX 27, Suppl. 2/10. 16th European Congress on Alternatives to Animal Testing.
Linz (Austria)
September 2-4, 2010
- Preiss A., Elend M., Reineke A.-K., Hollender J.
Identification of unusual metabolites in the aquifer of an ammunition waste site contaminated by mononitrotoluenes. TransCon2010.
Monte Verità, Ascona (Switzerland)
September 12-17, 2010

- Schaumann F., Berger-Preiss E., Koch W., Dijkstra D., Müller M., Braun A., Hohlfeld J., Krug N.
Influence of diesel exhaust particles (DEP) with and without organic compounds on the allergic inflammation in asthmatic subjects.
In: American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine 181: A1033, 2010. ATS 2010.
New Orleans, LA (USA)
May 14-19, 2010
- Schlepütz M., Seehase S., Schlumbohm C., Sewald K., Braun A., Kramer B. W., Uhlig S., Martin C.
Electric field stimulation of precision-cut lung slices suggests differences in distal lung innervation.
In: American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine 181: A5030, 2010. ATS 2010.
New Orleans, LA (USA)
May 14-19, 2010
- Schwarz K., Dunkhorst W., Lödding H., Windt H., Koch, W.
Investigations into the mechanism of droplet generation in the human lung. International Aerosol Conference 2010.
Helsinki (Finland)
August 29-September 3, 2010
- Seehase S., Schlepütz M., Schlumbohm C., Fuchs E., Kaup F., Krug N., Braun A., Martin C., Sewald K.
Characterisation of marmoset precision-cut lung slices (PCLS): Comparison with human tissue. ATS 2010.
New Orleans, LA (USA)
May 14-19, 2010
- Sewald K., Switalla S., Knothe S., Prenzler F., Förster C., Pfennig O., Martin C., Ebensen T., Guzmán C., Schaumann F., Krug N., Braun A.
The new adjuvant BPPcysMPEG activates innate immune responses in human precision-cut lung slices (PCLS).
In: American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine 181: A5737, 2010. ATS 2010.
New Orleans, LA (USA)
May 14-19, 2010
- Shevchenko M., Veres T., Schmalhorst P., Spies E., Sapozhnikov A., Braun A.
Neutralisation of *A. fumigatus* conidia in a chronic allergy asthma mouse. EAACI.
London (UK)
June 6-9, 2010
- Tillmann T., Schaudien D., Ernst H.
A case of severe subepicardial inflammation as part of the entity "dystrophic cardiac calcinosis" in a young BALB/c mouse.
8th European Congress of Toxicologic Pathology.
Budapest (Hungary)
September 28-October 1, 2010
- Tluczkiewicz I., Mangelsdorf I., Buist H., Martin M., Escher S.
Use of combined databases RepDose (FhG), Toxbase (TNO), MunroDB and ToxRefDB (USEPA) to refine TTCs for oral exposure.
In: Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology 381, Supplement 1, pp. 85-86. 51st Spring Meeting of the German Society for Experimental and Clinical Pharmacology and Toxicology (DGPT). Mainz (Germany)
March 23-25, 2010
- Volk J., Leyhausen G., Beckedorf A., Weitz A., Fitz-Maier H., Ziemann C., Geurtsen W.
Genotoxic potential of TEGDMA in oral epithelial cells.
IADR General Session.
Barcelona (Spain)
July 14-17, 2010
- Ziehr H.
Rapid bioprocess development for biosimilar antibodies.
BioJapan 2010.
Yokohama (Japan)
September 29-October 1, 2010
- Ziehr H.
Fast process development for recombinant antibodies and biosimilar APIs. 2010 Translational Research Excellence Conference (TRX10).
Brisbane (Australia)
October 11-13, 2010
- Ziemann C., Bellmann B., Serwatzki K., Creutzenberg O., Ernst H., Kolling A., Beneke S., Rittinghausen S.
Quantification of local genotoxicity in rat lungs after 3 months of particle exposure by immunohistochemical detection of 8-OH-dG, gamma-H2AX, and Poly(ADP-Ribose).
In: Naunyn Schmiedeberg's Archives of Pharmacology 381, Supplement 1, p. 65. 51st Spring Meeting of the German Society for Experimental and Clinical Pharmacology and Toxicology (DGPT). Mainz (Germany)
March 23-25, 2010

MITARBEIT IN GREMIEN **ACTIVE PARTICIPATION IN COMMITTEES**

Dr. Edith Berger-Preiß

Working group on phthalate measurement "Messen von Phthalaten" of the Association of German Engineers (VDI)

Working group on analyses in biological materials "Analysen in biologischen Materialien" of the German Research Foundation (DFG)

Dr. Annette Bitsch

Commission on food additives, flavorings, and processing aids "Lebensmittelzusatzstoffe, Aromastoffe und Verarbeitungshilfen" of the German Federal Institute for Risk Assessment (BfR)

Expert panel on wood preservatives in timber construction of the German Federal Institute for Construction Technology (DIBt)

Working committee on probabilistic exposure and risk assessment "Probabilistische Expositionsschätzung"

Prof. Dr. Jürgen Borlak

International examiner and member of the Doctoral School Committee in Biomolecular Sciences at the Centre for Integrative Biology (CIBIO) of the University of Trento, Italy

Reader, Department of Medicine and Therapeutics and Department of Biomedical Sciences, University of Aberdeen, Scotland

Editorial board of "Mutation Research Reviews", an international journal for the entire spectrum of the science of mutation research and its applications

Editorial board of the Toxicogenomics section of the "Journal of Environmental Health Perspective", NIEHS, NIH, USA

Associate editor of "Genes and Environment", the official journal of the Japanese Environmental Mutagen Society

Editorial board of "BMC Genome Medicine", an international journal for all areas of medicine studied from a genomic or post-genomic perspective

Editorial board of "Xenobiotica", an international journal for general xenobiochemistry and molecular toxicology

Editorial board of "Proteomics Insights", an international journal for all areas of proteomics

Editorial board of the "Journal of Integrative Bioinformatics", an international journal for data integration, method integration, and applications of theoretical/computational tools

Editorial board of the "World Journal of Gastroenterology", an international journal in gastroenterology and hepatology

Editorial board of "Frontiers in Predictive Toxicity", a specialty section of "Frontiers in Pharmacology", an international journal for the entire research spectrum of pharmacology

Reviewer for various scientific journals (incl. The Lancet, Pharmacogenetics, Biochemical Pharmacology, Toxicology and Applied Pharmacology)

Appointed expert by the World Health Organization for chemical and drug safety

Council on Basic Cardiovascular Sciences of the American Stroke Association

Drug discovery and development industry advisory board

Expert for the IMI (Innovative Medicines Initiative) Joint Undertaking under the responsibility of the European Commission for the evaluation of expressions of interest

Priv.-Doz. Dr. Armin Braun

Reviewer for international journals in respiratory medicine and immunology (incl. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine and Journal of Allergy and Clinical Immunology)

Reviewer for international foundations (incl. The Swedish Foundation for Strategic Research and the Fonds National de la Recherche Luxembourg)

PhD commission of the Hannover Medical School (MHH)

Scientific advisory committee of the German Society for Allergology and Clinical Immunology (DGAKI)

Dr. Jochen Buschmann

Working committee on reproductive toxicity "AK Reproduktions-toxizität" of the toxicology advisory board of the German Committee on Hazardous Substances (AGS)

Dr. Otto Creutzenberg

Reviewer for international journals in particle and fiber toxicology (Particle and Fibre Toxicology, Inhalation Toxicology)

Prof. Dr. Clemens Dasenbrock

Committee on Non-Ionizing Radiation, German Radiation Protection Board (SSK)

Editorial board of the journal "Experimental and Toxicologic Pathology"

Treasurer of the German Society for the Promotion of Biomedical Research

Dr. Ivan Dobrev

Temporary advisor in the WHO International Program on Chemical Safety (IPCS)

International WHO working group for the preparation of International Chemical Safety Cards (ICSC)

Dr. Heinrich Ernst

Editorial board of the journal "Experimental and Toxicologic Pathology"

"Guess What" Committee of the European Society of Toxicologic Pathology (ESTP)

INHAND (International Harmonization of Nomenclature and Diagnostic Criteria) organ working groups "Soft Tissue" and "Skeletal System"

Reviewer for the international journal "Toxicologic Pathology"

Dr. Ilona Fleischhauer

Working groups "GLP: Überwachung/Toxikologie", "GLP: Analytik", and "GCP: Qualitätssicherung" of the German Society for Good Research Practice (DGGF)

Dr. Stefan Hahn

Working committee on chemical risk assessment "Chemikalienbewertung" (deputy head) of the division of environmental chemistry and exotoxicology "Umweltchemie und Ökotoxikologie" within the German Chemical Society (GDCh)

Prof. Dr. Dr. Uwe Heinrich

Research Committee of the Health Effects Institute (HEI), Boston, USA

DFG Senate Commission for the Investigation of Health Hazards of Chemical Compounds in the Work Area (MAK Commission)

Working group on "Dusts" of the MAK Commission

Ad hoc working group on "Granular Biopersistent Dusts" of the MAK Commission

Ad hoc working group on "Nanoparticles" of the MAK Commission

Ad hoc working group on "Metals" of the MAK Commission

Subcommittee III of the Committee on Hazardous Substances under the German Federal Minister of Labor and Social Affairs

Working group on "Fibers and Dusts" of the subcommittee III of the Committee on Hazardous Substances under the German Federal Minister of Labor and Social Affairs

Working group on "Metals" (chairman) of the subcommittee III of the Committee on Hazardous Substances under the German Federal Minister of Labor and Social Affairs

Commission supporting the public authorities for the authorization of animal experiments (Animal Protection Commission)

Working groups (invited member) on particles, fibers, diesel engine exhaust, polycyclic aromatic hydrocarbons, metals, irritant gases, and air pollution for the compilation of IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans

WHO working groups on air pollution and IPCS issues

NAMEN, DATEN, EREIGNISSE
NAMES, DATES, EVENTS

Scientific advisory board of the German Federal Institute for Drugs and Medical Devices (Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte, BfArM)

Advisory board of the Institute for Prevention and Occupational Medicine (IPA) of the German Social Accident Insurance (DGUV)

Advisory board "VDI Area of Competence Biotechnology" of the Association of German Engineers (VDI)

Editorial board of the journal "Umweltmedizin in Forschung und Praxis"

Editorial board of the "International Journal of Hygiene and Environmental Health"

Co-editor of the manual "Gefährdungsabschätzung von Umweltschadstoffen" (hazard assessment of environmental pollutants)

Chairman of the Fraunhofer Group for Life Sciences

Presidential Council of the Fraunhofer-Gesellschaft

Prof. Dr. Jens Hohlfeld

Reviewer for international journals (incl. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, European Respiratory Journal, Journal of Allergy and Clinical Immunology)

External expert for the German Research Foundation (DFG)

Deputy spokesman of the DFG Collaborative Research Center SFB 587 "Immune Reactions of the Lung in Infection and Allergy"

Deputy spokesman of the Research Training Group GRK 1441 "Allergic Responses in Lung and Skin"

Dr. Heinz-Gerd Hoymann

IMI (Innovative Medicines Initiative), Unbiased Biomarkers for the Prediction of Respiratory Disease Outcomes (U-BIOPRED), Work package 6

Dr. Rupert Kellner

Councilor for electronic communication and member of the Executive Board of the European Society of Toxicologic Pathology (ESTP)

Global Editorial and Steering Committee (GESC) for the initiative "International Harmonization of Nomenclature and Diagnostic Criteria for Lesions in Rats and Mice" (INHAND)

Prof. Dr. Wolfgang Koch

Editorial board of the "Journal of Aerosol Science"

Lecturer at the Technical University of Clausthal-Zellerfeld on dissemination of pollutants in the atmosphere and on aerosols in the environment

Dr. Gustav Könecker

Working committee on European chemicals policy "Europäische Chemikalienpolitik" of the state government of the Land Lower Saxony ("Energie- und Ressourceneffizienz", 6th governmental commission)

Working committee on soil chemistry and soil ecology "Bodenchemie und Bodenökologie" of the division of environmental chemistry and exotoxicology "Umweltchemie und Ökotoxikologie" within the German Chemical Society (GDCh)

Prof. Dr. Norbert Krug

Associate editor of the journal "Allergy" (European Academy for Allergy and Clinical Immunology, EAACI)

Reviewer for international journals in respiratory medicine and allergy (incl. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, Thorax, European Respiratory Journal, Journal of Allergy and Clinical Immunology, Allergy, and Clinical and Experimental Allergy)

External expert for the German Research Foundation (DFG)

Panel of non-university health research institutions "Ausschuss der nicht-universitären Forschungseinrichtungen in der Gesundheitsforschung" of the German Health Research Council (GFR)

Scientific advisory board of the German Society for Allergology and Clinical Immunology (DGAKI)

Dr. Oliver Licht

Working committee on chemical risk assessment "Chemikalienbewertung" of the division of environmental chemistry and exotoxicology "Umweltchemie und Ökotoxikologie" within the German Chemical Society (GDCh)

Working committee on regulatory toxicology "Regulatorische Toxikologie" of the German Society of Toxicology within the German Society of Clinical and Experimental Pharmacology and Toxicology (DGPT)

Dr. Norbert Lüthe

Working group on electronic data processing "EDV" of the German Society for Good Research Practice (DGGF)

Fraunhofer network "Qualitätsmanagement"

Dr. Inge Mangelsdorf

Commission on indoor air hygiene "Innenraumlufthygiene" of the German Federal Environmental Agency

Temporary advisor in the WHO International Program on Chemical Safety (IPCS)

Priv.-Doz. Dr. Susanne Rittinghausen

Editorial board of the journal "Experimental and Toxicologic Pathology"

Co-optive member of the ESTP board: representative for nomenclature and RITA

Global Editorial and Steering Committee (GESC) for the initiative "International Harmonization of Nomenclature and Diagnostic Criteria for Lesions in Rats and Mice" (INHAND)

"Guess What" Committee (chair) of the European Society of Toxicologic Pathology (ESTP)

INHAND (International Harmonization of Nomenclature and Diagnostic Criteria) organ working groups "Respiratory System", "Endocrine System", and "Soft Tissue"

Reviewer for the international journal "Toxicologic Pathology"

Dr. Katrin Schröder

Working committee on probabilistic exposure and risk assessment "Probabilistische Expositionen- und Risikoabschätzung"

Dr. Sven Schuchardt

Associate editor of the journal "Biological Chemistry"

Speaker of the Society for Biochemistry and Molecular Biology (GBM) study group "Bioanalytics"

Reviewer for international journals in biochemistry and analytics (incl. Journal of Proteome Research, Electrophoresis, Proteomics, and Talanta)

Dr. Christina Ziemann

Working group "Genotoxicity" of the DIN Standardization Committee 119.01.03.07.03

FORSCHUNGSPROJEKTE **RESEARCH PROJECTS**

National **National**

BMBF

Kompetenznetz "Die Virtuelle Leber"

BMBF-Programm "Auswirkungen synthetischer Nanomaterialien auf den Menschen" (NanoCare)

Projekt: CarbonBlack
Prädiktion humantoxikologischer Wirkung synthetischer Carbon-Black-Nanopartikel

Projekt: CarboTox
Entwicklung von Screening-Verfahren zur Untersuchung eines möglichen kanzerogenen Potenzials von Carbon Nanotubes

BMBF-Programm "Ersatz und Ergänzungsmethoden zum Tierversuch"

Erweiterte Prävalidierungsstudie zur Prüfung der toxischen Wirkung von inhalativ wirksamen Stoffen (Gasen) nach Direktexposition von Lungenzellen des Menschen an der Luft-/Flüssigkeitsgrenzschicht

BMBF-Programm "Vermeidung von Tierversuchen"

Validierung des *Ex-vivo*-Modells PCLS zur Prädiktion respirations-toxikologischer Effekte

Bundesamt für Strahlenschutz

Einfluss niederfrequenter elektromagnetischer Felder auf das sich entwickelnde blutbildende System, das Immunsystem und das ZNS *in vivo*

Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin (BAuA)

Validierung eines DV-gestützten Modells zur Abschätzung der inhalativen und dermalen Exposition bei Sprayprozessen. Forschungsvorhaben F2137

Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin (BAuA)

Gentoxischer Wirkmechanismus von Fein- und Ultrafeinstäuben in der Lunge. Forschungsprojekt F 2135

Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit

Entwicklung einer Strategie zur Bildung von Kategorien und Definitionen neuer Kategorien für die Endpunkte subakute, subchronische und chronische Toxizität zur Minimierung von Tierversuchen unter REACH

DFG

From Regenerative Biology to Reconstructive Therapy (REBIRTH). Exzellenzcluster

DFG-Paketantrag: "Diagnostik und Verlaufskontrolle von Lungenerkrankungen anhand exhalierter Aerosole"

Diagnostik und Verlaufskontrolle von Lungenerkrankungen anhand exhalierter Aerosole beim Menschen

Graduiertenkolleg 1441 "Regulation der allergischen Antwort in Lunge und Haut"

Prevention of allergic inflammation and asthma by the synthetic TLR2/6 agonist MALP

Bedeutung des Lungenkollektins Surfactant Protein A und D für die Toll-like-Rezeptor-Agonisten-modulierte allergische Entzündung

SFB 587: Immunreaktionen der Lunge bei Infektion und Allergie

Neuroimmune Interaktion beim Asthma bronchiale. Projekt B4

Interaktion zwischen pulmonalem Surfactant-System und allergischer Entzündung beim Asthma bronchiale. Projekt B8

Zelluläre Beeinflussung der allergischen Entzündung beim Asthma. Projekt B9

Lungenfunktionsmessungen. Projekt Z2

Umweltbundesamt

Verfahren der gesundheitlichen Stoffbewertung des FB II – ein Methodenvergleich von nationalen und internationalen Bewertungsgrundlagen. F+E-Vorhaben 363 01 274

Kanzerogenität und Mutagenität von Nanopartikeln – Bewertung des bisherigen Wissens als eine Grundlage für eine Regulation. F+E-Vorhaben 3709 61 220

**International
International****EU project: ACuteTox**

Research project for alternative testing

EU project: BmC

Bispecific monoclonal antibody technology concept

EU project: Chemscreen

Chemical substance *in vitro/in silico* screening system to predict human- and ecotoxicological effects

EU project: Emphysema versus Airway Disease (EvA)

Markers for emphysema versus airway disease in COPD

EU project: Innovative Medicines Initiative (IMI) "Understanding Severe Asthma"

Unbiased biomarkers for the prediction of respiratory disease outcomes (U-BIOPRED)

- WP3 Cross-sectional and longitudinal cohort
- WP4 Bronchoscopy studies
- WP5 Clinical models
- WP6 Pre-clinical laboratory models

EU project: LipidomicNet

Lipid droplets as dynamic organelles of fat deposition and release: Translational research towards human disease

EU project: NANODEVICE

Novel concepts, methods, and technologies for the production of portable, easy-to-use devices for the measurement and analysis of airborne engineered nanoparticles in workplace air

EU project: Net2Drug

From gene regulatory networks to drug prediction

EU project: OPENTOX

An interoperable predictive toxicology framework

EU project: OSIRIS

Optimized strategies for risk assessment of industrial chemicals through integration of non-test and test information

EU project: SEAWIND

Sound exposure and risk assessment of wireless network devices

EU project: SENS-IT-IV

Novel testing strategies for *in vitro* assessment of allergens

KOOPERATIONEN MIT INSTITUTIONEN UND HOCHSCHULEN

COOPERATION WITH INSTITUTIONS AND UNIVERSITIES

National **National**

Berufsgenossenschaftliches Forschungsinstitut für Arbeitsmedizin (BGFA), Bochum

Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin (BAuA), Berlin und Dortmund

Bundesanstalt für Gewässerkunde (BfG), Referat Biochemie/Ökotoxikologie (G3), Koblenz

Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR), Berlin

Charité – Universitätsmedizin Berlin
– Klinik für Pädiatrie m. S. Pneumologie und Immunologie
– Institut für Arbeitsmedizin
– Institut für Klinische Pharmakologie

Deutsches Primatenzentrum, Göttingen

Forschungszentrum Borstel
– Abteilung Klinische Medizin, Laborgruppe Molekulare und Klinische Allergologie
– Abteilung Immunchemie und Biochemische Mikrobiologie, Laborgruppe Lungenpharmakologie

Georg-August-Universität Göttingen, Zentrum für Pharmakologie und Toxikologie, Abteilung Pharmakologie

Helmholtz-Zentrum München

Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung, Braunschweig, Abteilung Vakzinologie und angewandte Mikrobiologie

Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung GmbH – UFZ, Leipzig

Institute of Pharmacology and Preclinical Drug Safety (IPAS), Nycomed GmbH, Barsbüttel

Justus-Liebig-Universität Gießen, Institut für Anatomie und Zellbiologie

Krankenhaus Großhansdorf, Zentrum für Pneumologie und Thoraxchirurgie

Medizinische Hochschule Hannover

- Abteilung Anatomie
- Abteilung Dermatologie
- Abteilung Immunologie
- Abteilung Klinische Pharmakologie
- Abteilung Pädiatrische Pneumologie
- Abteilung Pneumologie
- Abteilung Zahnerhaltung und Parodontologie
- Exzellenzcluster REBIRTH
- Klinisches Studienzentrum KS-MHH

RWTH Aachen, Institut für Pharmakologie und Toxikologie

Technische Universität Braunschweig, Institut für Pharmazeutische Technologie

Technische Universität Clausthal-Zellerfeld, Institut für Mechanische Verfahrenstechnik

Tierärztliche Hochschule Hannover, Institut für Pathologie

TWINCORE, Zentrum für Experimentelle und Klinische Infektionsforschung, Hannover

Universität Freiburg, Abteilung Pneumologie

Universität Konstanz, Molekulare Toxikologie

Universität Leipzig, Institut für Pharmazie

Universität Mainz, Abteilung Pneumologie

Universität Rostock, Medizinische Fakultät/Klinik und Poliklinik für Innere Medizin, Abteilung für Pneumologie

Universität Ulm, Institut für Humangenetik

Zentrum für Allergie- und Umweltmedizin (ZAUM), München

International International

BioME W.L.L., Manama (Bahrain)

Environmental Risk and Health Unit, Flemish Institute for Technological Research (VITO NV), Centre for Advanced R&D on Alternative Methods (CARDAM), Boeretang (Belgium)

Fraunhofer USA – Center for Molecular Biotechnology, Newark, DE (USA)

GlaxoSmithKline Services Unlimited, Brentford (UK)

Health Canada, Ottawa (Canada)

Hebrew University of Jerusalem, School of Pharmacy, Jerusalem (Israel)

Imperial College, London (UK)

Istituto Superiore di Sanità, Rome (Italy)

IT'IS Foundation for Research on Information Technologies in Society, Zurich (Switzerland)

Johns Hopkins Asthma and Allergy Center, Baltimore, MD (USA)

McMaster University Medical Centre, Hamilton, Ontario (Canada)

National Institute of Cancer Research, Genoa (Italy)

National Institute of Environmental Health Sciences (NIEHS), Research Triangle Park, NC (USA)

National Institutes of Health, New Bethesda, MD (USA)

OECD QSAR Expert Group (France)

Queensland Clinical Trials Network (QCTN), Toowong, Queensland (Australia)

RIVM National Institute of Public Health and the Environment, Bilthoven (The Netherlands)

TNO Quality of Life, Zeist (The Netherlands)

University of Amsterdam, Academic Medical Center, Amsterdam (The Netherlands)

University of Kazan (Russia)

University of Milan, Department of Organic Chemistry, Milan (Italy)

University of North Carolina, Chapel Hill, NC (USA)

University of Oklahoma Health Sciences Center, Department of Medicine, Pulmonary and Critical Care Division, Oklahoma City (USA)

University of Pennsylvania Medical Center, Philadelphia, PA (USA)

University of Siena, Faculty of Pharmacy, Siena (Italy)

University of Southampton (UK)

University of Trento (Italy)

University of Uppsala (Sweden)

US Environmental Protection Agency (EPA), Chapel Hill, NC (USA)

US Environmental Protection Agency (EPA), Washington, DC (USA)

World Health Organization (WHO), Geneva (Switzerland)

NAMEN, DATEN,EREIGNISSE
NAMES, DATES, EVENTS

GASTWISSENSCHAFTLER **VISITING SCIENTISTS**

Valérie Hox

Laboratory of Experimental Immunology, Leuven (Belgium)

Nour Karra

School of Pharmacy, Hebrew University, Jerusalem (Israel)

Mikhail Yuryev

Moscow Institute of Physics and Technology (State University),
Molecular and Biology Physics Department, Moscow (Russia)

MESSEN, KONGRESSE UND SEMINARE EXHIBITIONS, CONGRESSES, AND WORKSHOPS

Das Institut hat sich im Jahr 2010 auf folgenden Messen und Kongressen präsentiert:

In 2010, the institute participated in the following events:

March 7-11, 2010

SOT 2010

Annual Meeting of the Society of Toxicology
Salt Lake City, UT (USA)

October 5-7, 2010

Biotechnica

Hannover (Germany)

Außerdem richtet das Fraunhofer ITEM jährlich den Workshop "Models of Asthma and COPD" aus:

In addition, the Fraunhofer ITEM organizes the workshop "Models of Asthma and COPD" every year:

January 22-23, 2010

9th Workshop "Models of Asthma and COPD"

Fraunhofer ITEM, Hannover (Germany)



Rund 110 Wissenschaftler aus der Industrie, aus Forschungsinstituten und Universitäten diskutierten in diesem Jahr am Fraunhofer ITEM die Fortschritte bei der Entwicklung neuer Medikamente gegen Asthma und COPD. Trotz weiter Verbreitung weiß man nach wie vor eher wenig über die genauen Mechanismen

von Krankheitsentstehung und -verlauf. Mit verschiedenen Tiermodellen und anderen Teststrategien erforschen die Wissenschaftler die Zusammenhänge. Doch nicht jedes Modell liefert verlässliche Aussagen: So kann es vorkommen, dass ein im Tierversuch hochwirksames Medikament beim Patienten versagt. Welche Modelle sind geeignet, was gibt es an neuen Methoden zur Erforschung dieser häufigen Lungenkrankheiten? Im Zentrum der Diskussionen standen neue prädiktive präklinische Modelle, die eine schnelle und sichere Entwicklung ermöglichen und die Medikamente in kürzerer Zeit zum Patienten bringen.

About 110 scientists from industry, universities, and research institutions came together in January 2010 to discuss progress in the development of novel medications for asthma and COPD. Despite their frequent occurrence, still very little is known about the exact mechanisms in the pathogenesis and course of these diseases. Using different animal models and other testing strategies scientists have been trying to find correlations. But not all models will provide reliable results. It may happen, for example, that a drug found to be highly efficient in animal experiments will fail completely in patients. Which models are suitable, and are there new methods available for investigating these frequently occurring lung diseases? Presentations and discussions during this conference focused on new predictive pre-clinical models that will enable fast and safe development processes and allow for new drugs to reach patients more quickly.



Gemeinsam mit anderen Fraunhofer-Instituten aus dem Verbund Life Sciences präsentierte sich das Fraunhofer ITEM auf der **Biotechnica 2010** mit seinen Kompetenzen im Pharmabereich. Kunden konnten unter anderem das PRIT®-System begutachten, ein neues Testsystem, das ein Screening von inhalierbaren Medikamenten oder auch Luftschadstoffen *in vitro* ermöglicht.

Together with other Fraunhofer institutes of the Fraunhofer Group for Life Sciences the Fraunhofer ITEM participated in the **Biotechnica 2010**, presenting its competences in the pharmaceutical area. Visitors got a chance to inspect, among other things, the PRIT® ALI system, a novel test system that enables *in vitro* screening of inhalable drugs and also of airborne pollutants.

Impressum

Imprint

Koordination und redaktionelle Bearbeitung

Coordination and editorial work

Karola Neubert

Übersetzung

Translation

Karin Schlemminger

Bildmaterial

Photographs and illustrations

Rainer Meier (BFF), MEV-Verlag GmbH, Ralf Mohr, Nico Herzog (Seiten/pages: 16, 100 oben/top), Nickl + Partner (Seiten/pages: 5, 89 oben/top)

Alle übrigen Bilder und Abbildungen: ©Fraunhofer ITEM, Fraunhofer-Gesellschaft.

All other photographs and illustrations: ©Fraunhofer ITEM, Fraunhofer-Gesellschaft.

Alle Rechte vorbehalten. Nachdruck nur mit Genehmigung des Fraunhofer ITEM.

All rights reserved. Reproduction only with permission from Fraunhofer ITEM.

©Fraunhofer-Institut für Toxikologie und Experimentelle Medizin

Hannover 2011



KONTAKT

CONTACTS

Dr. Franz Drenk

Telefon +49 511 5350-402

franz.drenk@item.fraunhofer.de



Karola Neubert

Telefon +49 511 5350-225

karola.neubert@item.fraunhofer.de

Fraunhofer-Institut für Toxikologie und
Experimentelle Medizin ITEM
Nikolai-Fuchs-Straße 1
30625 Hannover
Haupteingang: Stadtfelddamm
Telefon +49 511 5350-0
Fax +49 511 5350-155
info@item.fraunhofer.de
www.item.fraunhofer.de

Fraunhofer ITEM
Pharmazeutische Biotechnologie
Inhoffenstraße 7
38124 Braunschweig
Telefon +49 531 6181-6001
Fax +49 531 6181-6199
info@item.fraunhofer.de
www.item.fraunhofer.de