

Ingrid Dörr
Dr.sc.hum.

Untersuchungen zur Genotoxizität partikelgebundener organischer Luftschadstoffe

Promotionsfach: Hygiene

Doktorvater: Herr Prof. Dr.med. Dr.h.c. H.-G. Sonntag

Die Luft enthält vielfältige Verunreinigungen in gasförmigem und festem Zustand. Feste Verunreinigungen sind Partikel, die, sofern sie eingeatmet werden können, als Reizkörper wirken. Sie können aber auch als Trägermaterial für chemische Verbindungen dienen, die auf ihrer Oberfläche adsorbiert sind. Organische partikelgebundene Schadstoffe stellen ein komplexes Stoffgemisch dar, dessen Zusammensetzung nach Ort und Zeit variiert. Sie werden teilweise direkt emittiert oder entstehen in komplexen Transformationsprozessen in der Atmosphäre.

Die den Luftuntersuchungen vorausgehende statistische Bewertung des Ames-Tests erbrachte folgende Resultate:

Die Kontrollen über einen Zeitraum von vier Jahren zeigte eine hohe Zuverlässigkeit der Untersuchungsergebnisse. Statistische Abweichungen von Einzelwerten an verschiedenen Untersuchungstagen konnten in der Regel über äußere, nicht vermeidbare Einflüsse wie dem Einsatz neuer Materialien erklärt werden. Die Spontanreversionsraten der untersuchten Teststämmen lagen mit ihren Mittelwerten im Bereich empfohlener Revertanzahlen. Sechs von acht Kontrollen zeigten normalverteilte Werte. Über statistische Vergleiche der einzelnen Kontrollen konnten die Einflüsse auf die Revertanzahlen durch die Versuchsbedingungen, teilweise sogar sich überlagernde, festgestellt werden.

In mehreren Untersuchungen an einem Standardstaub wurde für die einzelnen Versuchsdurchführungen sowie für die Zahlen aus allen Versuchstagen lineare Dosis-Wirkungs-Beziehungen ermittelt. Die Untersuchungsergebnisse zeigten somit reproduzierbare Werte.

Die organischen Staubextrakte bewirkten in mehreren Testverfahren an verschiedenen Bakterienkulturen genotoxische Schädigungen in unterschiedlicher Stärke. Die Ergebnisse in den verschiedenen Testverfahren können wie folgt zusammengefaßt werden:

Ames-Test

- Mit dem Nitroreduktase-Defizientenstamm TA98NR⁻ wurden unterschiedlich hohe Anteile an nitroreduktaseabhängigen Mutagenen, denen grundsätzlich Nitroaromaten zugerechnet werden, nachgewiesen. Ihr Anteil an der gesamten Mutagenität lag bei 15 bis 54 % und stieg tendenziell mit zunehmender Lufttemperatur an.
- In den Teststämmen TA700X wurden die spezifischen Basenpaarsubstitutionen durch mutagene Einzelverbindungen und Luftextrakte untersucht. Die Einzelstoffe zeigten in den Teststämmen charakteristische Mutationsspektren, an denen sie sich unterscheiden lassen. Die Spektren sind jedoch nicht geeignet, zwischen

verschiedenen Stoffklassen zu differenzieren. Dies liegt möglicherweise an der derzeit noch recht schmalen Datenbasis.

Die Mutationsspektren der 12 untersuchten Luftextrakte unterschieden sich nur geringfügig voneinander. Die mutagene Aktivität der Proben war verschieden hoch, die Verteilung auf die sechs möglichen Basenpaarsubstitutionen war für sämtliche Proben jedoch vergleichbar. Während zwei der sechs Teststämme durch keine der Proben revertiert wurden, zeigte ein dritter Teststamm nahezu die Hälfte der gesamten mutagenen Aktivität der Luftstäube.

- Die Untersuchungen von Luftproben mit unterschiedlich hoher Zeitauflösung im Teststamm TA98 zeigten unterschiedliche Ergebnisse. Mit der gewählten Untersuchungsanordnung konnten keine Transformationsprozesse zwischen Schadstoffen in der Luft oder auf den Filtern nachgewiesen werden.

SOS-Chromotest

Im SOS-Chromotest induzierten sämtliche Luftproben Genexpressionen des SOS-Reparatursystems. Obwohl grundsätzlich Nichtmutagene eine SOS-Reaktion induzieren können, wird in der vorliegenden Untersuchung eine hohe Korrelation zwischen den Ergebnissen im SOS-Chromotest und im Ames-Test erzielt. Da die Korrelation für zwei Teststämme im Ames-Test gilt, kann von einem Zusammenhang zwischen den mutationsauslösenden Stoffen und der Einleitung der SOS-Reparatur ausgegangen werden.

Mutatox-Test

Zur Detektion mutagener Stoffe wurde der Mutatox-Test als Alternative zum Ames-Test für unser Projekt überprüft. Das Testsystem ist im Hinblick auf Reaktionsverläufe, Mutagenität und mutagene Potenz verschiedener Chemikalien noch nicht ausreichend validiert. Da die Ergebnisse nicht direkt mit dem Ames-Test verglichen werden können, wurde auf die Einführung verzichtet.

Zur Identifizierung der mutagenen Stoffe können die Ergebnisse betrachtet werden, die auf aromatische Nitroverbindungen in Luftextrakten hinweisen. Im Teststamm TA98NR⁻ wurden durch sie frameshift-Mutationen ausgelöst, ihr Anteil an den einzelnen Proben ist jedoch sehr unterschiedlich. Ihre grundsätzliche Bedeutung ist nach diesen Ergebnissen unklar.

In den Teststämmen TA700X induzierten Luftproben Basenpaarsubstitutionen, die auch bei vier untersuchten aromatischen Nitroverbindungen beobachtet wurden. Die Ähnlichkeit der Mutationsspektren verweisen auf die Stoffklasse der aromatische Nitroverbindungen als Auslöser der mutagenen Aktivität von Luftproben. Die Bedeutung dieses Ergebnisses sollte durch systematische Untersuchungen in den Teststämmen sowie mit anderen molekulartoxikologischen Untersuchungsmethoden geklärt werden, um die analytische Identifizierung mutagener Luftschadstoffe zu unterstützen.

Für die Belastung durch Partikel ist vor allem ihre Größenverteilung von Bedeutung. Partikel kleiner 10 µm sind grundsätzlich inhalierbar, wobei insbesondere die Feinpartikel mit einem Durchmesser kleiner 2,5 µm bis in die Alveolen gelangen können. Auf der Partikeloberfläche können zahlreiche Stoffe mit toxischem Potential adsorbiert werden. Die Untersuchungen zur Partikelgröße führten zu folgenden Ergebnissen:

- Mit unserem Probenahmesystem werden etwa 90 Prozent der Stäube kleiner 10 μm Durchmesser erfaßt und untersucht. Im Ames-Test bewirkten Partikel kleiner 10 μm die gesamte mutagene Aktivität der Staubextrakte.
- In der Außenluft erreichten Partikel kleiner 3 μm mehr als 90 Prozent der Gesamtzahlen. Ihr Anteil an der Gesamtoberfläche betrug 60 Prozent, während sie nur 30 Prozent der Gesamtmasse stellten.
- Bei Windstille wurde eine exponentielle Abnahme der Anzahl mit zunehmender Partikelgröße beobachtet. Anzahl und Größenverteilung in den Meßhöhen 0,8 bis 4 m über dem Boden unterschieden sich nicht wesentlich. Bei Wind wurden in Bodennähe größere Partikel aufgewirbelt, die Gesamtzahlen lagen allerdings erheblich niedriger liegen als bei Windstille.

Die Bildung organischer partikelgebundener Mutagene vollzieht sich in komplexen Reaktionen. Inversionen können diesen Prozeß beeinflussen, da sie zu einer Anreicherung von Schadstoffen und damit der möglichen Reaktionspartner führen. Für unseren Probenahmeort Mannheim wurden vertikale Temperaturgradienten berechnet und auf mögliche Zusammenhänge mit mutagener Aktivität von Staubextrakten und Schadstoffen überprüft. Es ergab sich folgendes Resultat:

Ohne Berücksichtigung der Jahreszeit konnte kein Zusammenhang zwischen Temperaturgradienten und mutagener Aktivität von Luftproben nachgewiesen werden. Winterproben waren bei Inversion stärker mutagen als bei normaler Wetterlage. Für Sommerwochen, in denen Luftproben nur geringe mutagene Aktivität zeigten, konnte kein Zusammenhang mit Temperaturgradienten beobachtet werden.

In weitergehenden Untersuchungen sollte der übergeordnete Einfluß austauscharmer Wetterlagen, die zusätzliche Parameter umfassen, genauer betrachtet werden. Entsprechende Ausbreitungsmodelle können hier zu weiteren Erkenntnisse führen.